

Aus der 1. Medizinischen Klinik
Schwerpunkt Kardiologie, Angiologie und Pneumologie
der Medizinischen Fakultät Charité
der Humboldt-Universität zu Berlin

DISSERTATION

Untersuchungen zum myokardialen Sauerstoffradikal-Stoffwechsel am Tiermodell 30-36 Stunden und 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter medikamentöser Therapie mittels Ramipril, Metoprolol und Kombinationstherapie Metoprolol/Ramipril

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité
der Humboldt-Universität zu Berlin

von
Sabine-Susan Schulz
aus Zwickau

Dekan: Prof. Dr. Joachim W. Dudenhausen

Gutachter: 1. Prof. Dr. I Schimke

2. PD Dr. J. Gräßler

3. Prof. Dr. Richter

Datum der Promotion: 04.01.2005

III

Untersuchungen zum myokardialen Sauerstoffradikal-Stoffwechsel am Tiermodell 30-36 h und sechs Wochen nach Myokardinfarkt unter medikamentöser Therapie mittels Ramipril, Metoprolol und Kombinationstherapie Metoprolol/Ramipril

An Herzinsuffizienz sind in Deutschland weit mehr als 1 Mio. Menschen erkrankt. Ihre Häufigkeit steigt stetig an. Die Herzinsuffizienz wird als dominierende Herz-Kreislauf-Erkrankung des 21. Jahrhunderts angesehen. Die Hauptursache der Herzinsuffizienz ist die koronare Herzerkrankung besonderes nach stattgehabtem Myokardinfarkt. Sowohl für den akuten Myokardinfarkt als auch für die sich auf dieser Basis entwickelnde Herzinsuffizienz werden Veränderungen im Stoffwechsel der Sauerstoffradikale als pathophysiologisch bedeutsam angesehen. Es wird angenommen, dass als Folge der akuten Myokardischämie oxidativer Stress im Myokard hervorgerufen wird. Dieser kann über die akute Infarktphase hinaus prolongieren. Dadurch werden Mechanismen induziert (Hypertrophie und Apoptose, Störung myokardialer Signaltransduktion), die letztlich zur Herzinsuffizienz führen. Folgerichtig sollten therapeutische Maßnahmen, die zu einer Minimierung von oxidativem Stress führen, protektiv wirken.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde am Modell des Ligaturinfarktes der Ratte gezeigt, dass es in der Akutphase des Infarktes (30-36 h nach Ligatur) zu gesteigertem oxidativen Stress kommt. Dieser ließ sich anhand gesteigerter myokardialer Konzentration an Lipidperoxiden, die mit einer verminderten Konzentration antioxidativer Enzyme im Herz kombiniert war, dokumentieren. Werden solche Tiere 6 Wochen nach Ligatur untersucht, weisen sie im Herz im Vergleich zu scheinoperierten Tieren eine signifikant erhöhte Konzentration von Lipidperoxiden als Zeichen gesteigerten oxidativen Stresses auf. Parallel dazu werden typische Zeichen einer Herzinsuffizienz (Herzhypertrophie, erhöhter LVEDP, verminderte Kontraktilität) beobachtet. Wurden solche Tiere beginnend nach der akuten Myokardphase mit dem ACE-Hemmer Ramipril und dem β -Blocker Metoprolol behandelt – von beiden ist bekannt, dass sie protektiv in den Stoffwechsel der Sauerstoffradikale eingreifen können – wurde ein geringerer myokardialer oxidativer Stress beobachtet, der mit einer verminderten Ausprägung der morphologischen und funktionellen Herzinsuffizienzzeichen einherging. Die kombinierte Gabe von β -Blocker und ACE-Hemmer erwies sich dabei sowohl in der Reduktion von oxidativem Stress als auch in ihrem Einfluss auf Herzfunktion und Morphologie den Einzeltherapien überlegen. Als wesentlich für die Reduktion von oxidativem Stress durch β -Blockade und ACE-Hemmung

IV

wurde die kompensatorische Zunahme des enzymatischen antioxidativen Schutzes im Herz (GSH-Px, SOD) ausgewiesen.

ACE-Hemmer

antioxidative Enzyme

β-Blocker

Herzinsuffizienz

Ligaturinfarkt

Myokardinfarkt

oxidativer Stress

Myocardial oxygen radical metabolism analyzed 30-36 hours and 6 weeks after myocardial infarction in rats treated with Ramipril, Metoprolol or Metoprolol/Ramipril in combination

In Germany, more than 1 million people suffer from heart failure and the incidence is continuously growing. Consequently, heart failure is accepted to be the dominant disease of the heart and circulatory system in the 21st century. The main reason for heart failure is coronary heart disease in general, and especially myocardial infarction (MI). Changes in the oxygen radical metabolism are thought to be essential in the pathogenesis of myocardial infarction and heart failure as its important consequence. It is supposed that, as a result of myocardial ischemia, oxidative stress arises in the heart, which can activate and prolong mechanisms (hypertrophy, apoptosis, disturbed signal transduction) well documented to result in heart failure. Consequently, treatment, which reduces the myocardial oxidative stress, should be beneficial.

Using the model of ligature infarction in rats, our study shows increased myocardial oxidative stress in the acute phase of MI (30-36 h after ligature) documented by increased concentration of lipid peroxides (LPO) combined with reduced activity of the antioxidative enzymes. When the animals were analyzed 6 weeks after ligature in comparison to sham operated animals, increased oxidative stress and in parallel typical signs for heart failure (myocardial hypertrophy, increased LVEDP, reduced contractility) were observed. Treatment of the animals starting after acute myocardial infarction with the ACE-inhibitor Ramipril and the β -blocker Metoprolol – both are known to interfere protectively with the oxygen radical metabolism – reduced the myocardial oxidative stress and the morphological and functional signs of failing heart. This effect was most impressive after combined treatment with Metoprolol and Ramipril. The elevated enzymatic antioxidative defense (GSH-Px, SOD) which we found in the heart after β -blockade and ACE inhibition could be the reason.

ACE inhibitor

anti-oxidative enzymes

β blocker

heart failure

ligature infarction

myocardial infarction

oxidative stress

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. G. Baumann und Prof. Dr. med. Theres danke ich für die Möglichkeit meine Arbeit in der 1. Medizinischen Klinik, Schwerpunkt Kardiologie, des Universitätsklinikums Charité der Humboldt-Universität zu Berlin durchführen zu können.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Ingolf Schimke sowohl für die Bereitstellung des Themas als auch für die engagierte und freundliche langjährige Betreuung, die zur Realisierung meiner Dissertation beigetragen hat. Ebenso möchte ich mich bei Frau Chem.-Ing. Kruse und Frau Möckel für ihre Anleitung und die tatkräftige und vielfältige Unterstützung bedanken. Prof. Dr. med. Günther und Herrn Dr. Wagner danke ich für die Bereitstellung physiologisch-experimenteller Untersuchungsergebnisse.

Herrn Dr. Ringewaldt, derzeitiger Chefarzt im Kreiskrankenhaus Hofgeismar, danke ich für fachliche, rhetorische und stilistische Hilfestellung, Herrn Davin für die Lösung computer-technischer Fragen und Herrn Völker für die Unterstützung bei der Übertragung der Arbeit in eine zur elektronischen Veröffentlichung geeignete Form.

Der Medizinischen Fakultät (Charité) der Humboldt-Universität gilt mein Dank für die Bereitstellung des wissenschaftlichen Arbeitsplatzes.

Insbesondere danke ich meinen Eltern, denen ich diese Arbeit widmen möchte.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Herzinsuffizienz, adrenerges System und RAS	5
1.2	Oxidativer Stress und Herzinsuffizienz	7
1.3	Sauerstoffradikale	8
1.3.1	Superoxid-Radikal ($^{\circ}\text{O}_2^-$)	8
1.3.2	Wasserstoffperoxid (H_2O_2)	9
1.3.3	Das Hydroxyl-Radikal ($^{\circ}\text{OH}$)	9
1.3.4	Singulett-Sauerstoff ($^1\text{O}_2$)	10
1.3.5	Hypochlorid (^-OCl)	10
1.4	Sauerstoffradikalquellen mit Bedeutung für Herzschiidigung	10
1.4.1	Mitochondrale Atmungskette	10
1.4.2	Xanthinoxidase	11
1.4.3	Leukozytenaktivierung	11
1.4.4	Katecholaminmetabolismus	11
1.4.5	Arachidonsäurekaskade	12
1.5	Sauerstoffradikal- induzierte Schiidiigungsmechanismen	12
1.5.1	Lipidperoxidation	12
1.5.2	Proteine	13
1.5.3	Nukleinsäuren	13
1.6	Antioxidative Schutzmechanismen	14
1.6.1	Das nicht enzymatische System	14
1.6.2	Das enzymatische System	14

IX

1.6.2.1	Glutathionperoxidase (GSH-Px)	14
1.6.2.2	Glutathion-S-Transferasen (GST)	15
1.6.2.3	Superoxiddismutase (SOD)	15
2	Fragestellung	17
3	Material und Methoden	18
3.1	Tiermodell	18
3.2	Hämodynamische Messung (LVEDP)	19
3.3	Bestimmung des Hypertrophiegrades und der Infarktgröße	19
3.4	Bestimmung der kontraktile Funktion an isolierten Papillarmuskeln	19
3.5	Biochemische Untersuchungen	20
3.5.1	Bestimmung der Lipidperoxidkonzentration (LPO)	20
3.5.2	Proteinbestimmung	21
3.5.3	Aktivitätsmessung der Gesamt-Superoxiddismutase (t-SOD)	21
3.5.4	Bestimmung der Superoxiddismutase-Isoenzyme Mangan-SOD und Kupfer-Zink-SOD	22
3.5.5	Bestimmung der Glutathionperoxidase-Aktivität (GSH-Px)	22
3.5.6	Statistisch-methodische Vorbereitung	23
3.5.7	Anzahl der in die Studie eingeschlossenen Tiere	24
3.5.8	Statistik	24
4	Ergebnisse	25
4.1	Veränderungen des Sauerstoffradikal-Stoffwechsels 30-36 Stunden nach Myokardinfarkt	25
4.1.1	LPO-Konzentration	25
4.1.2	GSH-Px-Aktivität	25

4.1.3	t- SOD- Aktivität	26
4.1.4	CuZnSOD-Aktivität	27
4.1.5	MnSOD-Aktivität	28
4.1.6	Zusammenfassung Sauerstoffradikal-Stoffwechsel nach Myokardinfarkt - akute Phase -	28
4.2	Studie II - chronische Phase	29
4.2.1	Quantitative Beziehungen zwischen der Infarktgröße und dem LVEDP, dem Körpergewicht, den Ventrikelgewichten und den Herzhypertrophieindizes zur Charakterisierung einer Herzhypertrophie (6 Wochen nach Myokardinfarkt)	29
4.2.1.1	Placebobehandlung	33
4.2.1.2	Behandlung mit Ramipril, Metoprolol und Metoprolol/Ramipril- Kombination	33
4.2.2	Linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDP) 6 Wochen nach Infarkt	39
4.2.2.1	Placebobehandlung	39
4.2.2.2	Behandlung mit Ramipril, Metoprolol und Metoprolol/Ramipril- Kombination	39
4.2.3	Kontraktile Funktion der isolierten Papillarmuskeln 6 Wochen nach Infarkt	39
4.2.3.1	Placebobehandlung	39
4.2.3.2	Behandlung mit Ramipril, Metoprolol und Metoprolol/ Ramipril- Kombination	40
4.2.4	Charakterisierung des Sauerstoffradikal-Stoffwechsels 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter medikamentöser Therapie (Placebo (P), Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril (MR))	42

XI

4.2.4.1	Lipidperoxidkonzentration unter Placebobehandlung (P)	43
4.2.4.2	Lipidperoxidkonzentration unter Behandlung mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/ Ramipril (MR)	43
4.2.4.3	GSH-Px unter Placebobehandlung (P)	45
4.2.4.4	GSH-Px unter Behandlung mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/ Ramipril (MR)	45
4.2.4.5	t-SOD unter Placebobehandlung (P)	46
4.2.4.6	t-SOD unter Behandlung mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril (MR)	47
4.2.4.7	Mn-SOD unter Placebobehandlung (P)	47
4.2.4.8	Mn-SOD unter Behandlung mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril (MR)	48
4.2.4.9	CuZnSOD unter Placebo (P) und Behandlung mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Ramipril/ Metoprolol (MR)	48
5	Diskussion	52
5.1	Parameterkritik	52
5.1.1	Lipidperoxide (LPO)	52
5.1.2	Superoxiddismutase (SOD) und Glutathionperoxidase (GSHPx)	53
5.1.3	Superoxiddismutase (SOD)	54
5.1.4	Glutathionperoxidase (GSH-Px)	55
5.2	Ergebnisbetrachtung	55
5.2.1	Akuter Myokardinfarkt und oxidativer Stress	56
5.2.2	Oxidativer Stress und Herzinsuffizienz	59
5.2.3	Myokardinfarkt-induzierte Herzinsuffizienz	60
5.2.4	Tiermodell der myokardinfarktinduzierten Herzinsuffizienz	60

XII

5.2.5	Funktionelle und anatomische Charakteristika	61
5.2.6	Myokardialer oxidativer Stress und antioxidatives System	63
5.3	Einfluss von ACE-Inhibition und β -Blockade auf die infarktinduzierte Herzinsuffizienz	64
5.3.1	Funktionelle und anatomische Charakteristika	64
5.3.2	Myokardialer oxidativer Stress und medikamentöse Therapie	65
5.3.3	Ursachen für die Reduktion von oxidativem Stress durch ACE-Inhibition und β -Blockade	66
5.3.4	Reduktion von oxidativem Stress durch ACE-Hemmer und β -Blocker über die Wirkung als Sauerstoffradikal-Scavanger	67
5.3.5	Reduktion von oxidativem Stress durch ACE-Hemmer und β -Blocker über die Wirkung als Inhibitoren von Sauerstoffradikalquellen	67
5.3.6	Reduktion von oxidativem Stress durch ACE-Hemmer und β -Blocker über die Verminderung von chronischer Ischämie und Wandstress	68
6	Zusammenfassung	70
7	Schlussfolgerung	73
	Literaturverzeichnis	74

1 Einleitung

Herz-Kreislauf-Erkrankungen spielen in der westlichen Industriegesellschaft eine dominierende Rolle. Zunehmende Bedeutung hat die chronische Herzinsuffizienz, da ihre Inzidenz als einzige Herz-Kreislauf-Erkrankung in den vergangenen Jahren angestiegen ist. Ihre Prävalenz betrug 1994 in der Bundesrepublik Deutschland etwa eine Million. Die Krankheit war für über 50 000 Todesfälle verantwortlich und machte 6 % der Gesamtsterblichkeit aus. 10 % aller Patienten waren älter als 70 Jahre.

Frühere Studien, beispielsweise die Framingham-Studie (1), wiesen die Hypertonie vor der koronaren Herzkrankheit (KHK) als wichtigste Ursache einer Herzinsuffizienz aus. Es zeigte sich folgende Pathogenese: Hypertonie, KHK, Herzinfarkt, Herzinsuffizienz. Nach neueren Studien sind jedoch in diesem Ablauf Veränderungen zu beobachten (Abb. 1). So wurde bei 40 % der Patienten mit Herzinsuffizienz eine KHK, jedoch nur bei 17 % eine arterielle Hypertonie festgestellt. Erklären könnte sich dies durch Fortschritte in der Hochdruckbehandlung. Andererseits konnte die Prognose der KHK im Stadium des akuten Infarkts durch die Möglichkeit der Fibrinolyse und den frühen Einsatz revaskularisierender invasiver Maßnahmen verbessert werden. Pathogenetisch tritt damit die chronische Herzinsuffizienz als Folge des überstandenen Myokardinfarkts in den Vordergrund.

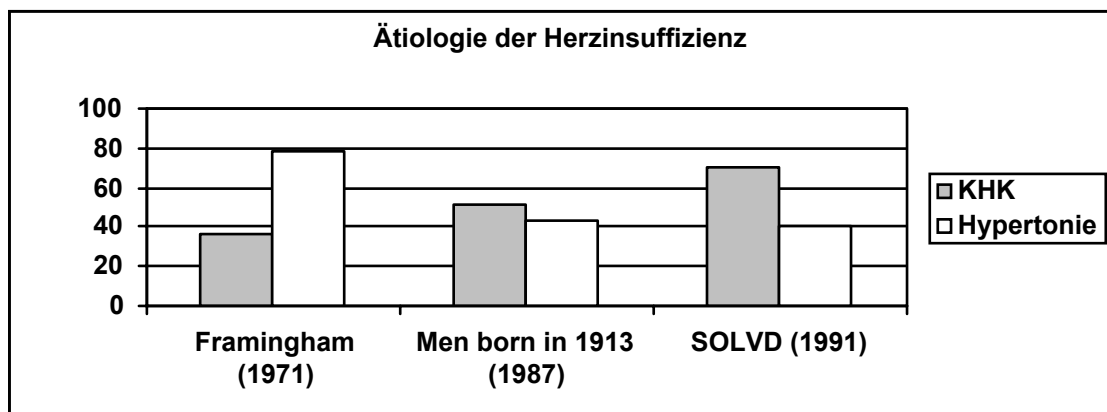


Abb. 1: Abnehmende Bedeutung der Hypertonie hinsichtlich der Genese Herzinsuffizienz

Braunwald (2) definierte die Herzinsuffizienz als Zustand des Herzens, bei dem pathologische Veränderungen der Funktion dazu führen, dass die pro Zeiteinheit ausgeworfene Blutmenge zur vollständigen Realisierung metabolischer Prozesse in peripheren Organen nicht ausreicht oder der periphere Blutbedarf nur bei einem hohen Füllungsdruck gedeckt werden kann. Die

erweiterte Definition von Packer (3) berücksichtigt die Bedeutung neuronaler und vegetativer Regelkreise in der Entwicklung der Herzinsuffizienz. Danach ist sie ein „komplexes klinisches Syndrom, charakterisiert durch Störungen der Ventrikelfunktion und der vegetativen und neurohumoralen Regulation, begleitet von Leistungsminderung, Flüssigkeitsretention und reduzierter Lebenserwartung“.

Der in Abb.2 dargestellte „circulus vitiosus“ zeigt schematisch die Bedeutung der vegetativen und neurohumoralen Stimulation im Rahmen der Erkrankung. Die Störung der Herzfunktion kann sich akut – innerhalb von Sekunden bis Tagen – oder chronisch – innerhalb von Monaten bis Jahren – herausbilden. Als Ursache der Herzinsuffizienz werden mechanisch induzierte (Drucküberlastung, Volumenüberlastung, Kinetikstörung, Muskelfaserverlust) oder direkt metabolisch bedingte Stoffwechselveränderungen (Koronarsklerose, Myokarditis, Kardiomyopathie) angesehen.

Die initialen Störungen, die die Pathogenese der Herzinsuffizienz in Gang setzen, umfassen hypoxisch-ischämische, rheumatisch-entzündliche, pharmakologisch-toxische, endokrine und hypertrophie-induzierende Elemente. Als biochemisches Korrelat zur Kontraktilitätseinschränkung des Myokards werden u.a. Aktivitätseinschränkungen des β -Rezeptor-Adenylcyclase-Systems, verminderte Aktivität der myofibrillären ATP-ase, Veränderungen des Myosin-Isoenzymmusters und Störungen des Ca-Flusses beschrieben (4).

Als Reaktion auf die Dysfunktion des Myokards werden Kompensationsmechanismen aktiviert, die eine Stabilisierung bzw. Steigerung der Herzleistung und damit Anpassung des Herzens an erhöhte Leistungsanforderung ermöglichen (Adaptation). Diese „kompensierte hypertrophe Phase“ ist jedoch zeitlich begrenzt. Da die Leistungssteigerung zu einem erhöhten Sauerstoffbedarf des Herzens führt und gleichzeitig die zur Adaptation notwendigen und mit ihr einhergehenden morphologisch- und histologisch-anatomischen Veränderungen im Herzen zu einer verlängerten Diffusionsstrecke für das oxygenierte Blut führen, ergibt sich ein relatives Sauerstoffdefizit. Folgen in diesem – nach Katz (5) „energy-starved heart“ – sind Myokardischämie und eine Umstellung der Substratverwertung. Auf subzellulärem Niveau werden Schädigungsreaktionen initiiert, die zu einer kontinuierlichen Verschlechterung der Herzfunktion und damit Dekompensation führen.

Die wesentlichen experimentellen und in klinischen Studien ermittelten Daten zu den kardialen Adaptationsprozessen nach Myokardschädigung und die Bedeutung dieser Adaptations-

reaktionen für die Pathogenese dieser Krankheit wurden in einer Vielzahl von Übersichten beschrieben. Die folgende Darstellung basiert auf Arbeiten von Swynghedauw (4), Eichhorn und Bristow (6), Blaufarb und Sonnenblick (7), Colucci (8), Bristow (9) und Holtz (10).

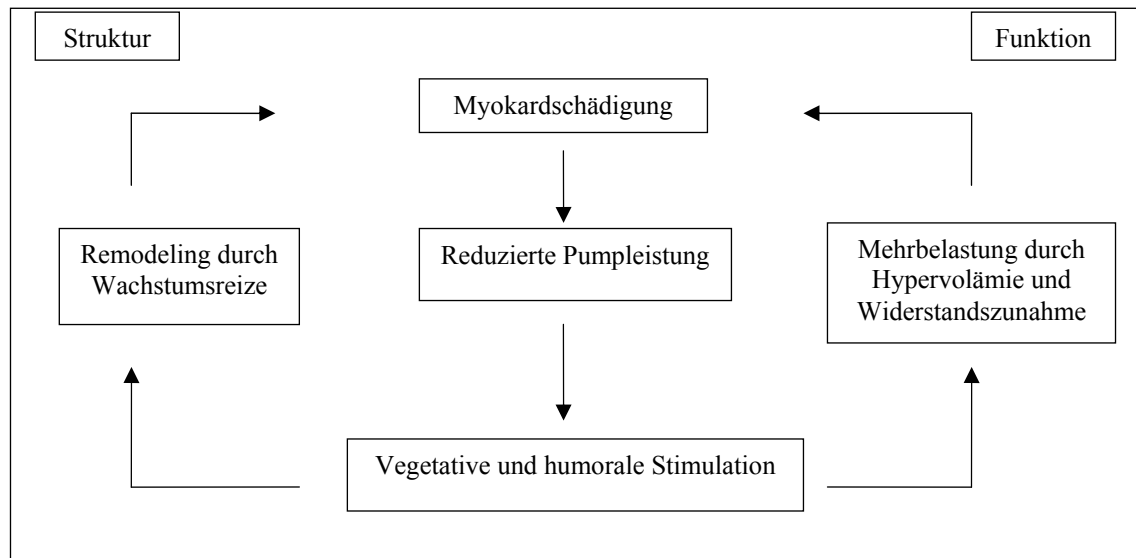


Abb. 2a: Circulus vitiosus der Herzinsuffizienzentwicklung

Zeitlich wird eine Aufeinanderfolge von Kompensationsmechanismen beobachtet: 1. Zunahme der Herzfrequenz, 2. Zunahme der Kontraktilität, 3. Vorlaststeigerung und 4. Zunahme der Zahl kontraktile Elemente. Von entscheidender Bedeutung für die Aktivierung dieser Kompensationsmechanismen ist die Aktivitätssteigerung neuronal-autokrin-parakriner Systeme, insbesondere des adrenergen Systems und des Renin-Angiotensin-Systems (RAS). Im Ergebnis können zeitlich begrenzt der Blutbedarf gedeckt und damit die metabolischen Funktionen aufrechterhalten werden. Parallel dazu kommt es zu strukturellen und funktionellen Umbauprozessen im Myokard, die unter dem Begriff „Myokardremodeling“ zusammengefasst werden. Myokardremodeling findet sich als physiologischer Vorgang bei Leistungssportlern und dient der Anpassung des Herzens an die gesteigerte Leistungsanforderung. Myokardremodeling im Verlauf der Herzinsuffizienz dient kurzzeitig ebenfalls der Aufrechterhaltung der kardialen Leistung, verstärkt jedoch zunehmend die myokardiale Dysfunktion. Das pathologische Myokardremodeling schließt die Zunahme der Myokardmasse ein, verbunden mit Hypertrophie der Einzelmyozyten, einer veränderten Genexpression mit bevorzugter Expressierung fetaler Gene und Änderungen in Qualität und Quantität der zellulären Matrix und einer Apoptoseinduktion.

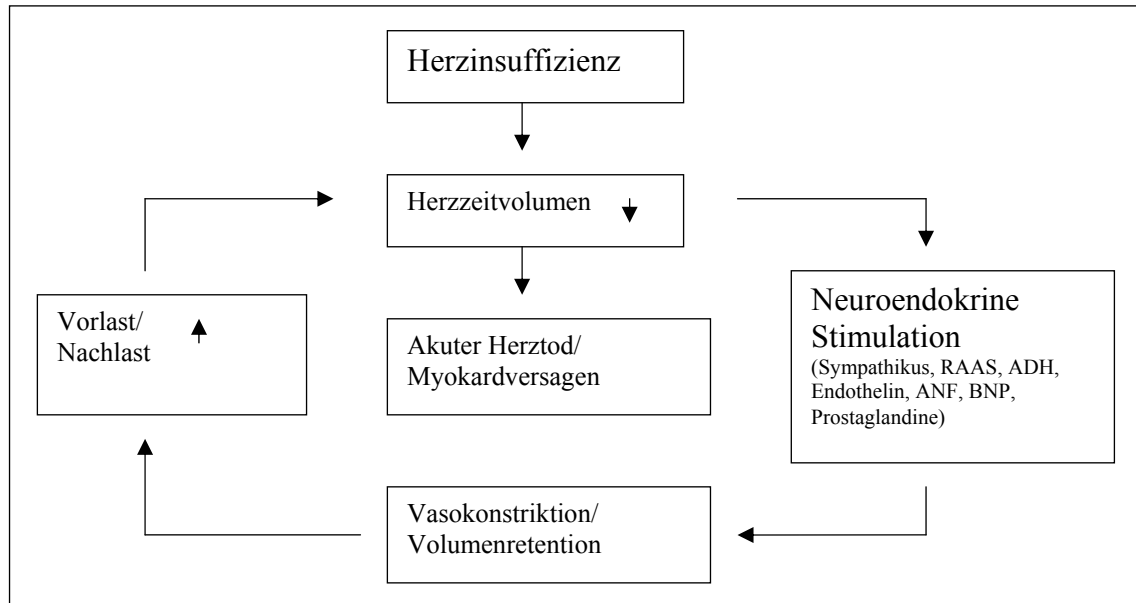


Abb. 2b: Circulus vitiosus bei Herzinsuffizienz, entnommen „Therapie der Herzinsuffizienz“, Prof. Strödter, UNI.MED Verlag 2000, S. 25

Am Beispiel der Herzinsuffizienz, hervorgerufen durch einen Myokardinfarkt, wurde gezeigt, dass das Remodeling zeitlich unterschiedlich auftretende strukturelle und funktionelle Veränderungen beinhaltet. Zu den frühen Remodelingprozessen zählt der in der akuten Infarktphase eintretende Zellverlust, gefolgt von Umbau und Narbenbildung des Bindegewebes im infarzierten Myokard. Die daraus resultierenden strukturellen Gewebeveränderungen, die in die Übergangsregion zum nicht betroffenen Myokard hineinreichen, bilden die Grundlage für die Vergrößerung des infarzierten Gebietes. Zur Kompensation des Verlustes von funktionsfähigem Myokard reagiert das nicht infarzierte Gewebe mit Dilatation und Myozytenhypertrophie. Endresultate sind ein vergrößerter Ventrikel, erhöhter linksventrikulärer enddiastolischer Druck und gesteigerte Wandspannung. Der Benefit für die Herzleistung ist dennoch nur mäßig.

Von größerer Bedeutung für die Entstehung der Herzinsuffizienz ist nach der akuten Infarktphase das „späte“ Remodeling im gesunden, gut perfundierten Myokard infolge der hämodynamischen Belastung und der permanent gesteigerten Wandspannung (7). Typisches Zeichen des „späten“ Remodeling ist eine zunehmende Myokardhypertrophie, die über die Reduzierung der Wandspannung eine zeitlich begrenzte Anpassung des Herzens an die gesteigerte hämodynamische Belastung ermöglicht. Die Myokardhypertrophie ist das Resultat von Kardiomyozytenhypertrophie sowie Hypertrophie und Hyperplasie von Fibroblasten und Endothelzellen. Es gibt zudem Hinweise auf eine Hyperplasiefähigkeit von Kardiomyozyten,

von der angenommen wird, dass sie eine „Wachstumsreserve“ im schwer geschädigten Myokard darstellt.

Wichtige zelluläre Veränderungen im Verlaufe des Remodelings resultieren aus der Reaktivierung des fetalen Genprogramms der Kardiomyozyten. Typisch sind u.a. die verstärkte Expression der Creatinkinase B- und LDH-M-Untereinheit. Im kontraktilen Apparat wird vermehrt Troponin T-Myosin und das V-Myosin exprimiert. Im Gegensatz zum normalen Herzen kommt es zur ventrikulären ANP-Expression. Weitere Veränderungen betreffen Ionenkanäle und Calcium-regulierende Proteine. Letztlich führt die Bildung neuer Sarkomere zur Längenausdehnung der Kardiomyozyten, deren Volumen um bis zu 100 % zunehmen kann. Proliferation von Fibroblasten, interstitielle Fibrose und Veränderungen in der Menge und Zusammensetzung der extrazellulären Matrix laufen parallel zu den Myozytenveränderungen.

Zunehmender Kardiomyozytenverlust durch Nekrose und Apoptose wird gleichfalls beobachtet. Bereits zu einem frühen Zeitpunkt des Myokardremodelings wird eine DNA-Fragmentierung beobachtet als Zeichen der Induktion der Apoptose, die Resultat der Aktivierung von Endonucleasen ist. Da Apoptose während der Entwicklung physiologisch ist, könnte die Reaktivierung des fetalen Genprogramms in den Kardiomyozyten Ursache der mit dem Myokardremodeling zunehmenden Apoptoserate im Herzen sein. Bekannt ist, dass die meisten Myokardhypertrophie-induzierenden Stimuli (mechanische Dehnung des Myokards, Hypoxie, Ischämie und Reperfusion, Entzündungsmediatoren, Katecholamine, Angiotensin) gleichzeitig auch Apoptoseinduktoren sind. Zunehmend wird die Apoptose von Kardiomyozyten als ein wesentlicher Mechanismus in der Pathogenese der Herzinsuffizienz angesehen.

Wird die hämodynamische Überlastung des Herzens nicht unterbrochen, stößt die primär zur Kompensation eingeleitete Hypertrophie an ihre Grenzen. Die Fibrosierung und Apoptose, die Vergrößerung des Kammervolumens und letztendlich hochgradige exzentrische Dilatation führen dazu, dass das Herz „dekompensiert“, es wird „insuffizient“ mit der Konsequenz des Pumpversagens.

1.1 Herzinsuffizienz, adrenerges System und RAS

Die Kompensationsmechanismen, die bei erhöhter Leistungsanforderung an das Herz einsetzen (physiologisch z.B. Hochleistungstraining, pathophysiologisch z.B. nach Infarkt), sind an die Aktivierung von adrenergem System und RAS gebunden (Abb. 2a/b).

Gesteigerte Plasmaspiegel von Katecholaminen, Renin und Angiotensin II sind bei Patienten mit Herzinsuffizienz bekannt. Im Rahmen der Aktivierung von katecholaminergem System und RAS bestehen wechselseitige Beziehungen. So wird die Freisetzung von Renin aus der Niere über den adrenergen β_1 -Rezeptor vermittelt. Angiotensin II wiederum stimuliert die präsynaptische Freisetzung von Noradrenalin. Hauptsächlich Noradrenalin und Adrenalin, vermittelt über den adrenergen β_1 -Rezeptor, sind für die Zunahme von Herzfrequenz und -kontraktilität verantwortlich. Die Vorlastzunahme, die über den Frank-Starling-Mechanismus zur Erhöhung des Schlagvolumens führt, ist Resultat der Aktivierung von RAS und adrenergem System. So ist Angiotensin II ein Hauptmediator der Aldosteronsekretion. Die sekundär eintretende Natrium- und Wasserretention in der Niere erhöht die Vorlast. Zur Minimierung der nach Aktivierung des RAS und des adrenergen Systems einsetzenden Vasokonstriktion wird die Synthese von Vasodilatoren (z.B. Prostaglandinen) gesteigert.

Auch das Myokardremodeling steht in enger Beziehung zur Aktivierung des RAS und adrenergen Systems. Als bedeutendster Stimulus des Myokardmodellings wird der mechanische Stress der Ventrikelwand infolge der hämodynamischen Belastung angesehen. Durch Dehnung von Myozyten werden Stoffwechselwege aktiviert und Proteine exprimiert, denen Bedeutung im Wachstum zuzuschreiben ist (z.B. Proteinkinase C, Induktion fetaler Gene, verschiedene Wachstumsfaktoren). Der Proteingehalt gedehnter Myozyten kann um 30 % zunehmen. Die parallele Freisetzung von Angiotensin II könnte auf eine Mediatorwirkung des RAS bei der mechanisch induzierten Herzhypertrophie hinweisen. Angiotensin erhöht die Proteinsynthese in Kardiomyozyten und die DNA-Synthese in kardialen Fibroblasten. Typisch für die Wirkung des lokalen kardialen RAS ist die Hochregulation der ACE-Aktivität, die Steigerung der Konzentration an Angiotensinogen-mRNA sowie eine hohe AT1-Rezeptordichte im hypertrophierten Herz.

In vitro wurde gezeigt, dass auch adrenerge Stimulation zum Wachstum von Kardiomyozyten führt, verbunden mit der Re-Induktion fetaler Gene. Die Stimulierung des RAS und adrenergen Systems unterstützt Nekrosevorgänge und die Apoptoseinduktion. Die zytotoxische Wirkung von Katecholaminen ist seit langem bekannt. Angiotensin kann über die Stimulation der Noradrenalinfreisetzung diesen Prozess fördern, jedoch auch direkt zytotoxisch auf Kardiomyozyten wirken. Die exzessive Freisetzung von Angiotensin und Noradrenalin im geschädigten Herz kann damit zur Nekrose führen.

Die dehnungsinduzierte Apoptose in Kardiomyozyten ist an die Freisetzung von Angiotensin aus Kardiomyozytengranula gebunden. Inkubation von Kardiomyozyten mit Angiotensin führt ebenfalls zur Apoptose. In entsprechenden Versuchsreihen verhinderte eine AT1-Rezeptorblockade die Apoptose. Apoptose konnte auch durch Inkubation von Kardiomyozyten mit Noradrenalin induziert werden. In diese Richtung weist auch der Befund, dass eine Überexpression von $\beta 1$ -Rezeptoren bzw. $G_{\alpha s}$ -Proteinen mit einer gesteigerten Apoptoserate im Herz von Mäusen verbunden ist.

1.2 Oxidativer Stress und Herzinsuffizienz

Weniger bekannt ist, welche Reaktionswege von den unterschiedlichen mechanischen und metabolischen Initialreaktionen zum relativ uniformen Erscheinungsbild der manifesten Herzinsuffizienz führen. Heute wird angenommen, dass die Zunahme von oxidativem Stress im Herz eine wesentliche Komponente in der Pathogenese der Herzinsuffizienz darstellt. Neben einer Vielzahl von tierexperimentellen Studien, deren Befunde bereits mehrfach zusammenfassend dargestellt wurden (11, 12), weisen auch mehrere klinische Studien auf eine Assoziation von Herzinsuffizienz und gesteigertem oxidativen Stress (13-19) hin. Unterstützt wird diese Hypothese durch die signifikante positive Korrelationen des Ausmaßes an oxidativem Stress zur NYHA-Klasse bei gleichzeitiger negativer Korrelation desselben zur Herzfunktion.

In die gleiche Richtung weist eine Studie, die eine Abnahme von oxidativem Stress parallel zur therapeutisch bedingten Verbesserung der Herzfunktion, d.h. zu einem Wechsel in eine niedrigere NYHA-Klasse zeigt (20). Auch der Nachweis von gesteigertem myokardialen oxidativen Stress bei Herztransplantatempfängern (22), die mit zunehmender Posttransplantationszeit eine Herzinsuffizienz entwickeln, untermauert die pathogenetische Bedeutung von oxidativem Stress. Als wesentlich für die Entstehung von oxidativem Stress wird eine erhöhte Generierung von Sauerstoffradikalen angesehen, welche häufig mit einer verminderten Inaktivierung der Radikale einhergeht. Die für die Herzinsuffizienz letztlich biochemischen Initialreaktionen (hypoxisch, ischämisch, rheumatisch, entzündlich, pharmakologisch-toxisch, endokrin und hypertrophie-induzierend) sind als Auslöser der gesteigerten Sauerstoffradikalbildung bekannt (5). Nach zellphysiologischen und tierexperimentellen Studien löst die Induktion von oxidativem Stress im Herzen, wenn ihm nicht protektiv begegnet wird, eine Kaskade von Schädigungsreaktionen aus (Lipidperoxidation, Thioloxydation), welche die für die Myokardfunktion essentiellen Stoffwechselwege negativ beeinflussen. Auch Störungen

im Ca-Stoffwechsel und in der Signaltransduktion sowie Apoptoseinduktion sind typische und bedeutsame Folgen von gesteigertem oxidativen Stress (11, 23).

1.3 Sauerstoffradikale

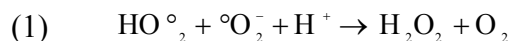
Der Begriff „Sauerstoffradikale“ wird als Synonym für radikalische und nicht radikalische Moleküle benutzt, die bei univalenter Reduktion von Sauerstoff oder in Reaktionen der primär gebildeten Spezies miteinander bzw. mit anderen Biomolekülen entstehen (Tab. 1). Die hervorstechende Eigenschaft von Sauerstoffradikalen ist ihre Reaktionsfähigkeit, die eine notwendige Voraussetzung für physiologische Reaktionen ist (Fremdstoffmetabolisierung, Eikosanoidmetabolismus, Phagozytose, Synthese biogener Amine u.a.), aber über unspezifische Reaktionen auch zur Zellschädigung führen kann.

Tab. 1: Reaktive Sauerstoff-Spezies und deren Bildungsorte (24)

	Spezies	Bildungsreaktion
$^{\circ}\text{O}_2^-$	Superoxidradikal	Elektronentransport, Leukozytenaktivierung Methämoglobin-Metmyoglobinsynthese, Autooxidation
$^{\circ}\text{OH}$	Hydroxylradikal	Gebildet aus $^{\circ}\text{O}_2^- + \text{H}_2\text{O}_2$ in der Fenton-Reaktion
$^*\text{O}_2$	Singulett-Sauerstoff	angeregter Zustand 92,1 kJ/mol angeregter Zustand 154,9 kJ/mol (ohne biolog. Bedeutung) über den Grundzustand ($^3\text{O}_2$), gebildet in der Reaktion: $\text{H}_2\text{O}_2 + ^{\circ}\text{OCl}$ und $\text{O}_2 + \text{HO}^{\circ}$
H_2O_2	Wasserstoffperoxid	gebildet aus $^{\circ}\text{O}_2^-$ durch nicht enzymatische Dismutation und direkt aus O_2 (divalente Reduktion)
LO°	Alkoxyradikal	Lipidperoxidationsprodukt
LOO°	Peroxyradikal	Lipidperoxidationsprodukt
L°	Lipidradikal	Lipidperoxidationsprodukt
$^{\circ}\text{OCl}$	Hypochlorid	Myeloperoxidase-Reaktionsprodukt

1.3.1 Superoxid-Radikal ($^{\circ}\text{O}_2^-$)

Superoxid entsteht durch univalente Reduktion von Sauerstoff. Physikalische Einflüsse wie UV-Licht, Ultraschall, Röntgen- oder Gammastrahlen führen zur Bildung des Superoxid-Radikals. Von weitaus größerer biologischer Bedeutung ist die Superoxidgenese in Autooxidationsreaktionen, an denen Zellbestandteile wie z.B. Hydrochinone, Flavine, Hämoglobin, Glutathion und andere Thiole sowie Ionen von Übergangsmetallen beteiligt sein können. Unter physiologischen Verhältnissen wird das Superoxid-Radikal zu seiner konjugierten Säure protoniert, dem Hydroperoxid-Radikal (HO°_2), mit dem es schließlich zu Wasserstoffperoxid und molekularem Sauerstoff disproportioniert. (Gleichung 1).



Das zytotoxische Potential des Superoxidradikals ist gering. Lipidperoxidationsreaktionen sind durch Superoxidradikale nicht auslösbar. In biologischen Systemen ist Superoxid Ausgangsprodukt des Hydroxylradikal, welches in metallkatalysierter Reaktion entsteht (Fenton-Reaktion). Hauptkatalysatoren sind hierbei zweiwertige Eisen-, einwertige Kupfer- und vierwertige Mangan-Ionen. Die durchschnittliche intrazelluläre Konzentration der Superoxid-Radikale wird durch das Enzym Superoxiddismutase (SOD) reguliert, welches die spontane Dismutationsgeschwindigkeit um den Faktor 10^9 steigert. Tyler (25) konnte den Nachweis führen, dass der transmembranäre Transport von $^{\circ}\text{O}_2^-$ -Radikalen durch einen Anionenkanal erfolgt.

1.3.2 Wasserstoffperoxid (H_2O_2)

Die Zelltoxizität von H_2O_2 ist vergleichbar mit der des Superoxid-Radikals. H_2O_2 entsteht bei der Dismutation von Superoxid. H_2O_2 wird ebenfalls durch D-Aminosäureoxidase erzeugt, ein leukozytäres Enzym, welches bei der Vereinigung eines Phagosoms mit einem Peroxisom die Oxidation von D-Aminosäuren der abzubauenen Membranstrukturen katalysiert. Katalase (in Peroxisomen) und glutathionabhängige Enzymsysteme bauen H_2O_2 ab.

1.3.3 Das Hydroxyl-Radikal ($^{\circ}\text{OH}$)

Das Hydroxylradikal gehört zu den reaktivsten Molekülen der Natur. Als wichtigste Entstehungsquelle für $^{\circ}\text{OH}$ in biologischen Systemen wird die Haber-Weiß-Reaktion (Gleichung 2) bzw. deren metallkatalysierte Variante, die Fenton-Reaktion, angesehen (Gleichung 3).



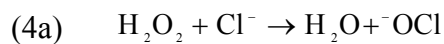
In der Fenton-Reaktion fungiert das Superoxid-Radikal als Elektronen-Donator, H_2O_2 als Elektronen-Akzeptor und Eisen (III) als Katalysator. Trotz des hohen Schädigungspotentials von $^{\circ}\text{OH}$ verfügt der Organismus über keine spezifischen Schutzmechanismen, vergleichbar mit denen für H_2O_2 und $^{\circ}\text{O}_2^-$. Folgen der äußerst hohen Reaktivität sind vor allem DNA-Destruktion und Lipidperoxidation.

1.3.4 Singulett-Sauerstoff ($^1\text{O}_2$)

Singulett-Sauerstoff ($^1\text{O}_2$) stellt den angeregten Zustand des Triplett-Sauerstoffes dar. $^1\text{O}_2$ ist eine nicht radikalische Spezies mit hohem Energiegehalt und daher sehr reaktionsfreudig. Insbesondere ungesättigte Fettsäuren sind geeignete Reaktionspartner, wodurch eine Lipidperoxidationskaskade einleitet werden kann.

1.3.5 Hypochlorid (^-OCl)

Hypochlorid entsteht durch die in Makrophagen lokalisierte Myeloperoxidase (MPO) während der Phagozytose mikrobieller Strukturen. Hierbei nutzt das Enzym hauptsächlich das in Makrophagen gebildete H_2O_2 zur Oxidation von Chlorid. Ebenso werden auch andere Halogenide wie Bromid und Jodid als Substrat akzeptiert. In einer zweiten Reaktion kann H_2O_2 mit dem gebildeten OCl -Radikal zu Singulett-Sauerstoff reagieren (Gleichung 4a/4b).



Als Folgereaktion von ^-OCl mit Aminoverbindungen ($-\text{NH}_2$) können nicht minder reaktionsfreudige Chloramine (R-NH-Cl) gebildet werden.

1.4 Sauerstoffradikalquellen mit Bedeutung für Herzschädigung

Eine Reihe unterschiedlicher Sauerstoffradikalquellen hat Bedeutung für die Entstehung einer Herzinsuffizienz: vorwiegend die mitochondriale Atmungskette, der Purin-, Leukozyten- und Katecholaminstoffwechsel sowie Interaktionen in der Arachidonsäurekette.

1.4.1 Mitochondriale Atmungskette

In Mitochondrien entsteht Superoxid als Zwischenprodukt der intrazellulären Atmungskette. Während 96-99 % des Sauerstoffs in der Atmungskette durch Cytochromoxidasen vollständig zu H_2O reduziert werden, werden circa 1-4 % als Superoxid freigesetzt. H_2O_2 - und ^-OH -Bildung, die bei der mitochondrialen Atmung beobachtet werden, sind sekundäre Produkte des Superoxides. Nach Ischämie und anschließender Reperfusion konnten in myokardialen Mitochondrien erhöhte Radikalkonzentrationen nachgewiesen werden (26).

1.4.2 Xanthinoxidase

Xanthin und Hypoxanthin - Abbauprodukte des Purinmetabolismus - werden mittels Xanthin-oxidoreduktase (XOD) zu Harnsäure abgebaut. Unter physiologischen Bedingungen liegt die XOD in der Dehydrogenase-Form (XDH) vor. XDH nutzt NADH als Elektronenakzeptor. Unter Ischämie kommt es oxidativ oder proteolytisch zur Konversion des Enzyms in die Oxidase-Form. Hierbei dient O_2 als Elektronenakzeptor, wodurch mittels XOD Superoxid gebildet wird. Im Verlauf der Ischämie kommt es zur Akkumulation von AMP, Hypoxanthin und Xanthin im ischämischen Areal. Nach Wiedereinsetzen der Perfusion verfügt die XOD damit über ausreichend Substrate zur Superoxidbildung. Eine Reduktion der XOD-induzierten Gewebeschäden konnte mit dem Xanthinoxidase-Inhibitor Allopurinol experimentell in Hunde- und Rattenherzen erreicht werden (27). Im humanen Herz, Kaninchen- und Schweineherz konnte eine XOD/XDH-Aktivität in relevanten Konzentrationen nicht nachgewiesen werden. Untersuchungen von Jarasch (28) zeigen jedoch, dass humane Endothelzellen $^{\circ}O_2^-$ -Radikale durch XOD bilden können.

1.4.3 Leukozytenaktivierung

Phagozyten (Neutrophile, Eosinophile, Monozyten und Makrophagen) werden chemotaktisch im Rahmen einer Entzündungsreaktion durch abgestorbene Zellen angelockt. Bei der Phagozytose wird ein hoher Sauerstoffverbrauch beobachtet, welchen man als „respiratory burst“ bezeichnet. Scarpa et al (29) konnten zeigen, dass aktivierte Makrophagen im Vergleich zum Ruhezustand ca. 70 % des intrazellulär aufgenommenen Sauerstoffs zu Radikalspezies metabolisieren. Durch Proteinkinase C vermittelt wird eine membranständige NADPH-Oxidase aktiviert, die den Transfer eines Elektrons vom zytosolischen NADPH auf extrazellulären Sauerstoff unter Bildung von reduziertem $^{\circ}O_2^-$ katalysiert. Ausgehend von $^{\circ}O_2^-$ werden durch Dismutation, Fenton-Reaktion und Hydrogenoxidase-Reaktion H_2O_2 , $^{\circ}OH$ und $^{\cdot}OCl$ gebildet. $^{\cdot}OCl$ reagiert nicht enzymatisch mit H_2O_2 unter Bildung von Singulett-Sauerstoff.

1.4.4 Katecholaminmetabolismus

Jede verstärkte Ausschüttung von Katecholaminen führt zu ihrem gesteigerten Abbau und damit zur Bildung von $^{\circ}O_2^-$, zum einen über ein erhöhtes Substratangebot für den Monoaminoxidaseweg (21), zum anderen durch autooxidative Reaktionen. Eine verstärkte Katecholaminausschüttung infolge eines erhöhten Sympathikotonus bei verminderter

Herzleistung stellt daher durch verkürzte Diastolendauer nicht nur eine verschlechterte Perfusionsbedingung für das geschädigte Myokard dar, sondern fördert zusätzlich die Bildung gewebetoxischer Metabolite wie $^{\circ}\text{O}_2^-$, $^{\circ}\text{OH}$ und H_2O_2 . Durch die zeitverzögerte endogene „Down-Regulation“ der β -Rezeptoren wird die Überstimulation des Herzens blockiert, die lokale Radikalbelastung bleibt jedoch bestehen.

1.4.5 Arachidonsäurekaskade

Die Schädigung der Zellintegrität setzt unabhängig von der Art des Mechanismus chemotaktisch wirksame wie auch direkt im Zellverband interzellulär-kommunikative Botenstoffe frei. Fast alle Entzündungsmediatoren und Lymphokine, z.B. Vasopressin, Angiotensinogen II, Katecholamine, Thrombin, ADP, Endotoxine, C3b und Antigen-Antikörper-Reaktionen, sind zu einer Phospholipasenaktivierung fähig. Zentrales Ereignis ist die Freisetzung polyungesättigter Fettsäuren (PUFA) aus Membranphospholipiden. PUFA sind Substrate für Oxidationskaskaden, deren entscheidende Enzyme die mikrosomale Cyclooxygenase und die überwiegend zytoplasmatische Lipooxygenase sind. Über beide Wege werden Fettsäurehydroperoxide (LOOH) gebildet, die enzymatisch zu Prostaglandinen und Leucotrienen metabolisiert werden. Im Rahmen des Prostaglandinstoffwechsels wird zusätzlich Singulett-Sauerstoff gebildet. Fettsäurehydroperoxide können auch nicht enzymatisch übergangsmetallkatalysiert zu verschiedenen Radikalspezies umgewandelt werden.

1.5 Sauerstoffradikal- induzierte Schädigungsmechanismen

1.5.1 Lipidperoxidation

Besonders gut untersucht ist die Reaktion von Sauerstoffradikalen mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA), die in einer Reihe von charakteristischen, als Lipidperoxidation bezeichneten Reaktionen modifiziert werden. PUFA sind essentieller Bestandteil von Lipoproteinen und biologischen Membranen. In Gegenwart von OH° wird ein Wasserstoffatom von einer α -Methylengruppe der PUFA abstrahiert. Das entstehende Alkylradikal (L°) stabilisiert sich durch Dien-Konjugation. Die damit eintretende cis-trans-Isomerisierung (Molekülstreckung) stellt den ersten Eingriff in die Struktur von Lipoproteinen und insbesondere von Membranen dar. Durch Anlagerung von Sauerstoff an die Alkylradikale entstehen Peroxyradikale (LOO°), die zu einer erneuten Abstraktion von Wasserstoff aus bisher nicht peroxidierten PUFA befähigt sind. Als Resultat entstehen Fettsäurehydroperoxide (LOOH) und

neue Alkylradikale (L°). Die somit eingeleitete Kettenreaktion wird durch den Übergangsmetall-katalysierten Zerfall von Fettsäurehydroperoxiden zu Alkoxy- (LO) und Peroxyradikalen (LOO°) verlängert. Durch die Bildung von Fettsäurehydroperoxiden wird die Hydrophobie der Membran vermindert. In sekundären Reaktionen zerfallen Fettsäure-Hydroperoxide zu Aldehyden (Malondialdehyd, 4-Hydroxynonenal) und Alkanen (Äthan, Pentan). Dieses Prinzip führt letztlich zum vollständigen Abbau von Membranen. Die zelltoxische Wirkung der Lipidperoxidation wird noch dadurch verstärkt, dass die gebildeten Aldehyde mit NH_2 -Gruppen in Proteinen reagieren und damit Einfluss auf Funktion und Struktur der Proteine nehmen. Neben dem $^\circ OH$ -Radikal ist auch 1O_2 durch Addition an Doppelbindungen in PUFA als Induktor der Lipidperoxidation denkbar. Aufgrund des unterschiedlichen Gehaltes an PUFA differieren die relativen Peroxidationsraten in isolierten Organellen im Verhältnis Mikrosomen:Mitochondrien:Lyosomen wie 10:3:1. Hieraus kann auf eine zeitliche Reihenfolge der Membranveränderungen geschlossen werden. Gesteigerte Lipidperoxidationen werden heute bei einer Vielzahl von Erkrankungen beobachtet. Häufig korreliert das Ausmaß der Lipidperoxidation und der Schweregrad der Erkrankung (30). Ein wichtiger analytischer Marker für die Lipidperoxidation ist die Thiobarbitursäurereaktion.

1.5.2 Proteine

In Proteinen sind insbesondere Methionin-, Histidin- und Tryptophanreste sowie Thiolgruppen von Cysteinen empfindlich gegenüber reaktiven Sauerstoffspezies. So führt beispielsweise die Oxidation von Methionin 358 im aktiven Zentrum des α -1-Antitrypsins zu einer drastischen Verringerung der inhibitorischen Aktivität gegenüber Elastase. Auf die Auswirkungen, die im Zuge von Reaktionen zwischen Proteinen und den während der Lipidperoxidation gebildeten Aldehyden beobachtet werden können (Bildung von Schiff'schen Basen), wurde hingewiesen.

1.5.3 Nukleinsäuren

Eine Beteiligung freier Radikale an mutativen DNA-Veränderungen ist nicht nur durch UV (photolytisch) und durch ionisierende Strahlung möglich, sondern es kommen auch endogene Radikalgeneratoren in Betracht. Veränderungen der Tertiärstruktur wegen intramolekularer Ladungsverschiebungen oder DNA-Kettenbrüchen sind nach Reaktion mit Sauerstoffradikalen möglich.

1.6 Antioxidative Schutzmechanismen

Protektiver Einfluss auf den Sauerstoffradikal-Stoffwechsel kann auf drei Ebenen genommen werden: 1. durch Verhinderung der Bildung reaktiver Sauerstoffspezies, 2. durch Verhinderung ihrer Wirkung und 3. durch Beseitigung und Reparatur der Schäden.

Wesentlich für die zweite und dritte Ebene ist das antioxidative System, welches aus nicht enzymatischen und enzymatischen Komponenten besteht. Ziel dieses Systems ist es, die physiologisch notwendige Radikalkonzentration zu garantieren sowie gleichzeitig einen schädlichen Konzentrationsüberschuss zu verhindern.

1.6.1 Das nicht enzymatische System

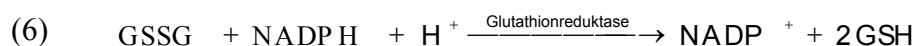
Hierzu zählt man vor allem α -Tocopherol (Vitamin E), β -Carotin (Vitamin A-Vorstufe), Ascorbat (Vitamin C), Glutathion, Harnsäure, Bilirubin, nicht proteingebundene und proteingebundene Thiolgruppen.

1.6.2 Das enzymatische System

Wichtige Bestandteile des enzymatischen Systems sind Glutathionperoxidase (GSH-Px), Glutathion-S-Transferase, Superoxiddismutase (SOD) und Katalase. Die Katalase-Aktivität wird in dieser Arbeit nicht näher betrachtet.

1.6.2.1 Glutathionperoxidase (GSH-Px)

1957 beschrieb Mills (31) erstmals dieses antioxidative Enzym, welches in seinem aktiven Zentrum selenhaltig ist. Das Spurenelement ersetzt hierbei kovalent gebunden das Schwefelatom der Aminosäure Cystein und ist integraler Bestandteil des Enzyms (Gleichungen 5, 6).

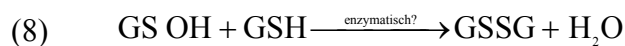


Das Enzym ist zu 70 % zytosolisch und mit einem Anteil von ca. 30 % in der Mitochondrienmatrix zu finden (32). Es stellt ein wasserlösliches Tetramer mit einem Molekulargewicht von 85 000 Da dar. Jede Subunit (21 000 Da) ist aus einer identischen Aminosäuresequenz aufgebaut und enthält ein Selen-Atom (24). Als Substrat akzeptiert das Enzym spezifische Elektronendonatoren, es zeigt jedoch eine geringe Substratspezifität, da Reaktionen nicht nur mit anorganischem H_2O_2 , sondern auch mit organischen Hydroperoxiden

(t-Butyl-OOH, Steroid-, Nukleinsäure- und Fettsäureperoxiden) erfolgen. Die GSH-Px-Aktivität ist vom intrazellulären Gehalt an reduziertem Glutathion abhängig. Die Regenerierung von GSH aus GSSG erfolgt durch eine NADPH-abhängige GSH-Reduktase. Pentosephosphatweg, Malatenzym und Isocitratdehydrogenase sind für die NADPH-Bereitstellung verantwortlich. Störungen im NADPH-Stoffwechsel wirken sich auf die Aktivität der GSH-Px aus. Ein Mangel an GSH-Px wie auch ein SOD-Defizit werden für Tumorzellen beschrieben. Die epidemiologische Studie Sharmbergers (33) unterstützt die Annahme, dass ein GSH-Px-Defizit ein Risikofaktor für die Pathogenese der koronaren Herzkrankheit ist. Auch das endemische Auftreten der KESHAN-Herzerkrankung in China könnte dies bestätigen, da sie vornehmlich in Selenmangelgebieten zu finden ist.

1.6.2.2 Glutathion-S-Transferasen (GST)

Dieses Enzym wird als alternativer Pathway zur Glutathion-Peroxidase-Reaktion beschrieben. Die GST ist selenunabhängig und kann hauptsächlich im Zytosol von Hepatozyten, Myozyten und Erythrozyten gefunden werden. Reaktionspartner sind vornehmlich Hydroperoxide und Fettsäureperoxide (Gleichungen 7, 8).



Im Zuge von Selenmangelzuständen mit verminderter GSH-Px-Konzentration erfolgt eine vermehrte Expression der GST, so dass eine vorübergehende Kompensation der verminderten GSH-Px-Aktivität möglich ist.

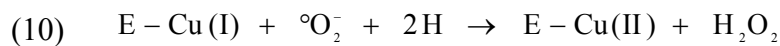
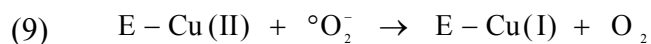
1.6.2.3 Superoxiddismutase (SOD)

Die SOD ist in eukaryontischen Zellen in zwei Isoenzymformen zu finden, welche in unterschiedlichen Zellkompartimenten lokalisiert sind. Das zytosolische Isoenzym (MG 34 000), welches aus zwei Untereinheiten besteht, enthält je Untereinheit ein zweiwertiges Cu- und ein zweiwertiges Zn-Atom. Jede Untereinheit wird durch eine intramolekulare Disulfidbrücke zwischen zwei Cysteinresten stabilisiert. Die SOD-katalysierte Dismutation von reduziertem O_2^- zählt mit zu den schnellsten enzymatischen Reaktionen im Organismus. Die Funktion des Enzyms konnte mit anderen kupferhaltigen Reagenzien nachgeahmt werden; so können auch D-

Penicillinamin, Salicyl-Cu-Chelatkomplex und auch das plasmatische Caeruloplasmin-Superoxid dismutieren.

Das mitochondriale Isoenzym stellt ein Tetramer mit einem MG von 80 000 Da dar, welches im aktiven Zentrum dreiwertiges Mn gebunden hat. Sein katalytischer Beitrag an der Gesamtaktivität des Herzens beträgt rund 10 % der Gesamt-SOD-Aktivität. Die Synthese der Mn-SOD erfolgt extramitochondrial über Enzymvorstufen, welche bei Passage der Mitochondrienmembran zu funktionstüchtigen Katalysatoren umgewandelt werden.

Obwohl die Isoenzyme vergleichbare Substratspezifität aufweisen, scheint ihre biologische Entwicklung divergent verlaufen zu sein, da z.B. die CuZn-SOD durch Cyanid hemmbar ist, sich aber im Vergleich zur Mn-SOD resistent gegenüber Ethanol und Chloroform verhält. Ebenso unterscheiden sich die Genloci der Enzyme: CuZnSOD Chromosom 21, MnSOD Chromosom 6. Die Genexpression ist beeinflussbar durch pO_2 -Anstieg und intrazellulären O_2 -Gehalt. Für den katalytischen Mechanismus sind zweiwertiges Kupfer bzw. dreiwertiges Mangan unabdingbar, während zweiwertiges Zink strukturbildende Funktionen erfüllt (Gleichungen 9,10).



2 Fragestellung

Ausgehend von der Bedeutung, die den sauerstoffradikal-abhängigen Reaktionen in der Pathogenese der Herzinsuffizienz zugeschrieben ist, überrascht es nicht, dass die Gabe von Antioxidantien zur Hemmung des Sauerstoffradikal-Stoffwechsels als präventive bzw. therapeutische Optionen vorgeschlagen wurden (30). Untersuchungen in vitro hatten darüber hinaus gezeigt, dass die Hemmung von RAS (AT1-Blockade, ACE-Inhibition) und β -adrenergem System bei Herzinsuffizienz zu einer verminderten Bildung von Sauerstoffradikalen und einer Hemmung der zytotoxischen Folgereaktionen (Lipidperoxidation) führt (9). Davon ausgehend haben wir die Hypothese formuliert, dass die protektive Modulation des myokardialen Sauerstoffradikal-Stoffwechsels durch ACE-Inhibition und β -Blockade einen Mechanismus darstellen kann, der entscheidend zum therapeutischen Nutzen von ACE-Inhibitoren und β -Blockern bei Patienten mit Herzinsuffizienz beiträgt.

Ziel der Arbeit ist es, am Rattenmodell zu prüfen, ob eine mögliche protektive Wirkung von ACE-Inhibition und β -Blockade auf die myokardinfarktinduzierte Herzinsuffizienz mit der Modulation des myokardialen Sauerstoffradikal-Stoffwechsels einhergeht. Dazu wurde im Myokard der Sauerstoffradikal-Stoffwechsel (Aktivitäten von Superoxiddismutase, Glutathionperoxidase und Lipidperoxid-Konzentrationen) analysiert, die Abschätzung eines Protektionserfolges erfolgte über die Charakterisierung der linksventrikulären hämodynamischen Funktion sowie die Bestimmung des Ausmaßes an Herzhypertrophie und der kontraktilen Funktion isolierter Papillarmuskeln.

Die Grundlage für die kombinierte Gabe von Ramipril und Metoprolol sind die MERITH- (34) und die CIBIS II-Studie (35), in denen nachgewiesen wurde, dass die Kombination beider Medikamente sich hinsichtlich des therapeutischen Nutzens bei Patienten mit Herzinsuffizienz additiv verhält. Unbekannt ist, ob sich auch die Effekte im Sauerstoffradikal-Stoffwechsel in gleicher Weise verstärken.

3 Material und Methoden

3.1 Tiermodell

Alle Experimente wurden gemäß den Bestimmungen für Pflege und Handhabung von Laborversuchstieren des „US National Institutes of Health“ (NIH Publication No. 85-23, revised 1985) durchgeführt. Es wurden 335 männliche Albino-WISTAR-Ratten ausgewählt, welche zu Versuchsbeginn 15 Wochen alt waren und 250-280 g wogen.

Der Myokardinfarkt wurde unter Anästhesie durch Ligatur der linken Koronararterie erzeugt. Die Anästhesie erfolgte durch eine intraperitoneale Injektion von 75 mg/kg KG Ketaminhydrochlorid (Ketanest®, Sanofi-Ceva, Germany) in Kombination mit 7,5 mg/kg KG Xylanzinhydrochlorid (Rompun®, Bayer, Germany). Danach wurden die Tiere intubiert und mit Luft beatmet. Nach Inzision der Haut und Freilegung des darunterliegenden Muskelgewebes wurde parallel zum Sternum der linke M. pectoralis durchtrennt. Nach Eröffnen des Perikards wurde das Herz luxiert und die linke Koronararterie in Höhe des linken Vorhofs unterbunden. Der erfolgreiche Gefäßverschluss wurde durch eine regionale Zyanose des Myokards in Kombination mit dem Auftreten charakteristischer ST-Hebungen im Elektrokardiogramm bei 318 Tieren nachgewiesen. Nach Reposition des Herzens wurde der Brustkorb verschlossen. Zur antibiotischen Begleittherapie wurden subcutan 20 mg/kg Gentamycinsulfat (Refobacin®, Merck, Darmstadt, Germany) injiziert. Als Kontrollgruppe (K) dienten 25 „scheinoperierte“ Tiere. Diese wurden analog operiert, jedoch ohne die Koronararterie zu ligieren.

Fortan erhielten die Tiere 6 Wochen entweder den ACE-Hemmer Ramipril (Gruppe R), den selektiven β -1-Blocker Metoprolol (Gruppe M), eine Kombination beider Medikamente (Gruppe MR) oder Placebo (Gruppe P). Die Tiere der Medikamentengruppe R erhielten vom ersten postoperativen Tag an Ramipril (Astra Hässle, Mölndal, Sweden) in einer Dosierung von 1 mg/kg pro Tag, gelöst im Trinkwasser der Tiere. Die Gruppe M erhielt Metoprolol (Astra Hässle, Mölndal, Sweden) in einer Dosierung von 350 mg/kg KG pro Tag als Zugabe zum Standardpelletfutter. Die Gruppe MR wurde mit 350 mg/kg KG Metoprolol plus 1 mg/kg KG Ramipril behandelt. Um in dieser Gruppe einen exzessiven Blutdruckabfall unmittelbar nach der Infarzierung zu vermeiden, erhielten die Tiere in Dosissteigerung postoperativ 350 mg/kg KG Metoprolol (Tag 1-3), 350 mg/kg KG Metoprolol plus 0,1 mg/kg KG Ramipril (Tag 4-7) sowie die gleiche Metoprololdosis plus 0,3 mg/kg KG Ramipril (Tag 8-11).

Während des Versuches wurden die Tiere bei Raumtemperatur gehalten, wobei möglichst ein 12-stündiger circadianer Rhythmus beachtet wurde.

Nach 6 Wochen wurden die Tiere erneut narkotisiert, anschließend wurden hämodynamische Parameter gemessen und nachfolgend Herzgewebe zur Bestimmung des Hypertrophiegrades, der Infarktgröße, der kontraktilen Funktion sowie zur Charakterisierung des Sauerstoffradikal-Stoffwechsels gewonnen.

3.2 Hämodynamische Messung (LVEDP)

Für die Messung des linksventrikulären enddiastolischen Druckes wurde ein 2F-Mikrotip-Druckaufnahme-Katheter (Millar, AD Krauth, Hamburg) in die rechte Arteria carotis communis eingebracht und sodann im linken Ventrikel platziert.

3.3 Bestimmung des Hypertrophiegrades und der Infarktgröße

Nach Messung des LVEDP wurden die Herzen umgehend entnommen, abgetupft und sofort mit eisgekühlter physiologischer Kochsalzlösung gespült. Anschließend wurden die Vorhöfe, der rechte und linke Ventrikel sowie der posteriore linksventrikuläre Papillarmuskel präpariert. Jeder Herzanteil wurde gewogen. Danach wurde visuell zwischen Infarktgewebe und funktionstüchtigem Myokard des linken Ventrikels differenziert. Für die biochemische Analyse wurden etwa 15 mg Gewebe aus einem relativ weit vom Infarktbereich entfernten Gebiet des linken Ventrikels entnommen, unmittelbar in flüssigem Stickstoff eingefroren und bis zur Analyse bei -80°C gelagert. Anschließend wurde zur Bestimmung der Infarktgröße durch Inkubation mit 0,1 %-igem Nitro-Blau-Tetrazoliumsalz (NBT) zwischen infarziertem Areal und intaktem linken Ventrikel unterschieden. Das Infarktgebiet (Narbe) wurde nach Separierung aus dem linken Ventrikel planimetrisch vermessen. Die Infarktgröße (IG) wurde als prozentualer narbiger Anteil an der Oberfläche des linken Ventrikels angegeben. Zur Analyse der akuten Infarktphase wurde zusätzlich Gewebe aus dem rechten Ventrikel gewonnen.

3.4 Bestimmung der kontraktilen Funktion an isolierten Papillarmuskeln

Der linksventrikuläre posteriore Papillarmuskel wurde unmittelbar nach Entnahme in einer Messkammer zwischen einem fixierten Haken und einem isometrischen Kraftwandler eingehängt. Hierbei wurde das Präparat bei einem pH 7,43 und 31°C von einer mit 100 %igem Sauerstoff oxygenierten Blutersatzlösung umspült, bestehend aus (Angaben in mM) 140 NaCl, 5,0 KCl, 1,5 CaCl_2 , 1,1 MgCl_2 , 10,0 Tris/HCl und 11,1 Glucose. Die Applikation von Reizstärke,

-dauer und -frequenz erfolgte über Plugsys System 603 (Hugo Sachs Elektronik, March-Hugstetten, Germany). Bei einer durchschnittlichen Frequenz von 0,5 Hz und einer biphasischen Impulsdauer von 7 ms konnten maximale Kraftentwicklung (peak force, /PF), Latenzzeit bis zum Kraftmaximum (TPF) und Relaxationszeit (entspricht 50 % PF) ermittelt werden.

3.5 Biochemische Untersuchungen

3.5.1 Bestimmung der Lipidperoxidkonzentration (LPO)

Die quantitative Messung der Lipidperoxidkonzentration (LPO) im Gewebe wurde nach der Methode nach Ohakawa et al. (36) durchgeführt. Genutzt wurde die Eigenschaft von Lipidperoxiden, mit Thiobarbitursäure in saurer Lösung (ph 3,5) zu einem roten Farbkomplex (thiobarbitursäurereaktive Substanzen, TBARS) zu reagieren, welcher fluorimetrisch bei 515/553 nm gemessen werden kann.

Testzusammensetzung, Reagenzien: Natriumdodecylsulfat (SDS) 8,1 % 0,28 mol/l; 2-Thiobarbitursäure 0,8 % 0,049 mol/l; 1,1,3,3-Tetraethoxypropan (TBA) 10 nmol/ml Eisessig; Acetatpuffer (20 %-ig mit NaOH auf ph 3,5 titriert) Pyridin; n-Butanol

Arbeitsvorschrift: Nach Homogenisierung (3 x 15 s mittels Ultra-Thurax) des Gewebes (50 mg/ml) wurde das Gewebehomogenat dem nachfolgenden Messansatz entsprechend analysiert (Angaben in ml):

Messansatz	Leerwert	Eichkurve	Probe
Acetatpuffer ph 3,5	0,3	0,3	0,3
Na-Dodecylsulfat	0,04	0,04	0,04
TBA	0,3	0,3	0,3
dest. H ₂ O ₂	0,15		
Homogenat			0,15

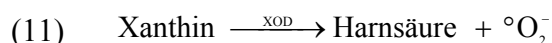
Das Reaktionsgemisch wurde 60 min bei 90° C inkubiert. Nach Abkühlung im Eisbad wurden 0,2 ml dest. H₂O und 1,0 ml Butanol/Pyridin (Verhältnis 15:1) zugegeben. Nach 20-minütigem Schütteln und folgender Zentrifugation (10 min bei 1000 U/min) wurde die Lipidkonzentration nach Überführung der Butanolphase in die Meßküvette fluorimetrisch auf LAB-QUANT SHIMADZU RF-5001 PC bei 515 nm Extinction/553 nm Emission gemessen. Die Konzentration der TBARS wird nach Subtraktion des Leerwertes auf der Basis der Eichkurve bestimmt. Als Standard diente Tetraethoxypropan.

3.5.2 Proteinbestimmung

Benutzt wurde die Methode nach Lowry (37). Die Konzentrationsberechnung erfolgte mittels eines mitgeführten Humanalbumin-Standards über eine Eichkurve. Die Probe wurde als Doppelwert auf SHIMADZU-UV-PC 2001 bei 750 nm bestimmt.

3.5.3 Aktivitätsmessung der Gesamt-Superoxiddismutase (t-SOD)

Die SOD-Aktivitätsbestimmung basiert auf der Methode nach Beauchamp und Fridovich (38). Nach diesem Testprinzip werden mittels Xanthin und Xanthinoxidase (XOD) Sauerstoffradikale produziert, welche I.N.T. (2-4-Iodophenyl-3-nitrophenol-5-phenyltetrazolium-chlorid) zu einem roten Farbstoff reduzieren, dessen Bildung bei einer Wellenlänge von 550 nm verfolgt werden kann. In Anwesenheit der SOD wird diese Indikatorreaktion gehemmt. Hierbei erfolgt die Farbstoffhemmung (im Bereich einer 30- bis 60 %-igen Hemmung) proportional der SOD-Enzymaktivität.



Genutzt wurde der kommerzielle Testkit „Ransod“, der nachfolgende Zusammensetzung besitzt (Randox Laboratories Ltd., North Ireland):

Mixed Substrate: Xanthin (0,05 mmol/l), I.N.T. (0,025 mmol/l), CAPS pH 10,2 (50 mmol/l), EDTA (0,94 mmol/l), Xanthin-Oxidase XOD (80 U/l), 2 mmol/l Natriumcyanid (für selektive Bestimmung der Mangan-SOD)

Messansätze (Angaben in µl), Messtemperatur 37° C:

	Leerwert Total-SOD	Total-SOD	Leerwert Mn-SOD	Mn-SOD
Dest. H ₂ O	10		10	
Homogenat (1:10)		10		
Homogenat pur				10
Mixed Substrat	340	340	340	340
0,2 M NaCN			50	50
	Durchmischen	Durchmischen	Durchmischen	Durchmischen
XOD	50	50	50	50
Gesamtvolumen	400	400	450	450

Eine 50%-ige Hemmung der Farbstoffbildung wurde als 1 Unit/l SOD-Aktivität definiert. Wie unten dargestellt, ergibt sich eine optimale Probenkonzentration im Test, wenn das Homogenat

1:10 verdünnt wird. Bei dieser Probenkonzentration wird eine Hemmung im Bereich des für diesen Test ausgewiesenen Linearitätsbereiches (30-60 % Hemmung) erzielt.

	X	Prozentuale Hemmung
Leerwert	30,2	
Verdünnung 1:10	17,84	40,91
Verdünnung 1:25	24,59	18,58
Verdünnung 1:50	27,91	7,59
Verdünnung 1:100	29,07	3,75

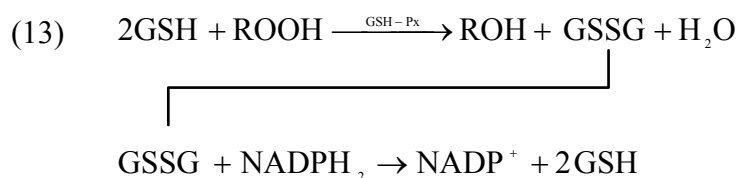
Der Variationskoeffizient in der Serie betrug 5,25 %. Für die „Von-Tag-zu-Tag-Streuung“ wurde ein Variationskoeffizient von < 10 % akzeptiert.

3.5.4 Bestimmung der Superoxiddismutase-Isoenzyme Mangan-SOD und Kupfer-Zink-SOD

Die Aktivität der Mn-SOD kann mit demselben Testverfahren wie für die Total-SOD erfolgen, nachdem durch die Anwesenheit von Na-Cyanid die Aktivität des Isoenzym Cu-Zn-SOD gehemmt worden ist. Die nun gemessene Aktivität entspricht der Mn-SOD (39). Durch Subtraktion der Mn-SOD von der SOD-Gesamtaktivität erhält man den Anteil der Cu-Zn-SOD. In der Gegenwart von 2 mmol/l NaCN wird die Cu-Zn-SOD vollständig gehemmt. Da die Mn-SOD-Aktivität circa 10-15 % der t-SOD-Aktivität beträgt, muss das Probenmaterial unverdünnt eingesetzt werden.

3.5.5 Bestimmung der Glutathionperoxidase-Aktivität (GSH-Px)

Die Messung der Glutathionperoxidase-Aktivität erfolgte nach der von Paglia und Valentine (40) beschriebenen Methode. Die in der Testprobe enthaltene Glutathionperoxidase katalysiert die Oxidation von 2 Glutathionmolekülen (GSH) durch Cumenhydroperoxid (ROOH). In der anschließenden Folgereaktion wird das entstandene GSSG mittels NADPH₂ bei einem Überschuss an Glutathionreduktase kontinuierlich zu NADP⁺ reduziert. Dies kann bei 340 nm verfolgt werden (Gleichung 13).



Dieses Testprinzip nutzt das Testkit „RANSEL“ der Firma Randox Laboratories Ltd., North Ireland, das in dieser Arbeit verwendet wurde. Die Reagenzienkonzentrationen im Test sind nachfolgend aufgeführt:

Glutathion	4 mmol/ l
Glutathion- Reduktase	> 0,5 U/ l
NADPH	0,28 mmol/ l
Phosphatpuffer ph 7,2	0, 05 mol/ l
ETDA	4,3 mmol/ l
Cumenhydroperoxid	0,18 mmol/ l

Messansätze (Angaben in µl):

	Leerwert	mitgeführte Kontrolle	Probe
dest. H ₂ O	10		
Homogenat			10
Randox Kontrolle		10	
Reagenzgemisch	500	500	500
Cumenhydroperoxid	20	20	20
	Durchmischen	Durchmischen	Durchmischen
Gesamtvolumen	530	530	530

Die Berechnung der GSH-Px-Aktivität erfolgte nach der Formel:

$$(14) \quad \text{Aktivität(U/l)} = \frac{dE \times KV \times f}{e \times d \times PV \times t}$$

dE = Extinktion (Probe) - Extinktion Leerwert, **e** = molarer Extinktionskoeffizient (l/µmol x cm),
KV = Küvettenvolumen (0,53 ml), **PV** = Probenvolumen (0,01), **d** = Schichtdicke, **f** = Verdünnungsfaktor (1),
t = Messzeitintervall

Laut Messvorschrift sollte die Extinktion der Messprobe mehr als die doppelte Extinktion des Leerwertes betragen. Dies konnte bei Einsatz von unverdünntem Myokardhomogenat erreicht werden. Ein Variationskoeffizient < 10 % in der „Von-Tag-zu-Tag“-Streuung wurde akzeptiert.

3.5.6 Statistisch-methodische Vorbereitung

30-36 Stunden nach Myokardinfarkt (MI) wurden die Tiere (n = 6) getötet; das Myokardgewebe aus dem rechten und linken Ventrikel wurde im Vergleich zu „scheinoperierten“ Kontrollen (K) (n = 6) analysiert. Aus versuchstechnischen Gründen wurde der Mittelwert der Konzentration bzw. Aktivität im rechten Ventrikel mit jeweils 100 % angenommen. Die Konzentration bzw. Aktivität des linken Ventrikels wurde in prozentualer Relation dazu dargestellt. Alle im Nachfolgenden als signifikant ausgewiesenen Ergebnisse entsprechen dem Signifikanzniveau $p \leq 0,05$. Als Tendenz ausgewiesene Ergebnisse basieren auf $p \leq 0,1$.

Bei 318 von 335 Tieren wurde nach 6 Wochen ein erfolgreicher Gefäßverschluss (nachweisbar an regionaler Zyanose des Myokards in Kombination mit dem Auftreten charakteristischer ST-Hebungen im Elektrokardiogramm) erzielt. Innerhalb der ersten 24 Stunden nach Gefäßverschluss verstarben von diesen Tieren 44 % (178 überlebende Tiere). Bis 6 Wochen

nach Gefäßverschluss verstarben ohne signifikante Unterschiede in den Gruppen mit Myokardinfarkt weitere 7-12 % der Tiere. Von den 25 scheinoperierten Kontrolltieren starben im Versuchszeitraum 3 Tiere. Die überlebenden 156 Tiere mit Myokardinfarkt (R: 39, M: 38, MR: 38, P: 41) und die 22 Kontrolltiere wurden gewogen und narkotisiert und es erfolgte nach oben beschriebenem Vorgehen die Messung des LVEDP. Anschließend wurden die Tiere getötet, nach unverzüglicher Herzentnahme wurden die Vorhöfe abgetrennt, das Gesamtventrikelgewicht sowie die Infarktgröße bestimmt und Myokardgewebe aus dem rechten und linken Ventrikel für die biochemische Analyse sowie Papillarmuskeln zur Charakterisierung der Kontraktilität gewonnen.

3.5.7 Anzahl der in die Studie eingeschlossenen Tiere

Eingeschlossen in die Analyse wurden Tiere mit einem Transmuralinfarkt und einer Infarktgröße > 20 % des linken Ventrikels. Entsprechend wurden danach in der placebo-behandelten Gruppe mit Myokardinfarkt (P) 29 (71 %) von 41 Tieren und in der Kontrollgruppe (K) 22 Tiere berücksichtigt (Abb. 6a). Von den Tieren, die mit Ramipril (R), Metoprolol (M) bzw. mit der Kombination von Metoprolol und Ramipril (MR) behandelt wurden, sind (R) 30 (77 %) von 39, (M) 29 (76 %) von 38 und (MR) 21 (55 %) von 38 Tieren eingeschlossen worden (Abb. 6a). Die im Vergleich zu den Gruppen R, M und P prozentual geringere Anzahl von Infarkten > 20 Prozent in der Gruppe MR ließ sich nicht als statistisch signifikanter Unterschied sichern. Alle im Nachfolgenden als signifikant ausgewiesenen Ergebnisse entsprechen dem Signifikanzniveau $p \leq 0,05$. Als Tendenz ausgewiesene Ergebnisse basieren auf $p \leq 0,1$.

3.5.8 Statistik

Alle Werte sind als Mittelwert \pm SEM angegeben. Die statistische Auswertung wurde mit dem U-Test von Mann und Whitney bzw. dem Kruskal-Wallis-Test unter der Bonferoni-Held-Signifikanzangleichung mit den Programmen SPSS ® und EXEL ® durchgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 Veränderungen des Sauerstoffradikal-Stoffwechsels 30-36 Stunden nach Myokardinfarkt

4.1.1 LPO-Konzentration

Bei Vergleich der LPO-Konzentrationen des rechten und linken Ventrikels waren weder in der scheineroperierten Kontrollgruppe (\pm SEM %) ($100 \% \pm 12$ vs. $96,1 \% \pm 12$) noch in der Gruppe mit Myokardinfarkt ($184 \% \pm 8,5$ vs. $169 \% \pm 4,5$) signifikante Unterschiede nachzuweisen (Abb. 3). Sowohl im rechten ($100 \% \pm 12$ vs. $184 \% \pm 8,5$; $p < 0,01$) als auch im linken Ventrikel ($96,1 \% \pm 12$ vs. $166 \% \pm 4,5$; $p < 0,001$) waren die LPO-Konzentrationen bei den Tieren nach Myokardinfarkt signifikant höher als in den Kontrollen (Abb. 3).

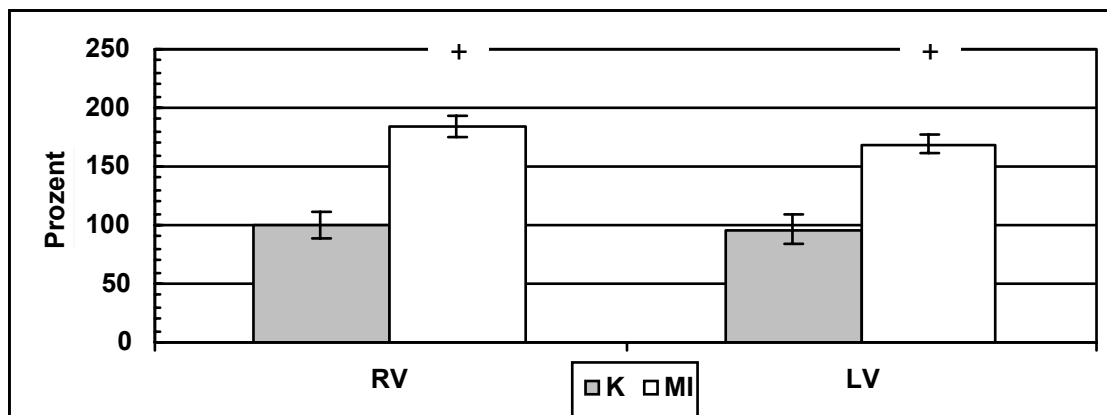


Abb. 3: Lipidperoxidkonzentration im rechten (RV) und linken Ventrikel (LV) 30-36 h nach Myokardinfarkt (MI) im Vergleich zu scheineroperierten Kontrollen (K). Der Mittelwert für den rechten Ventrikel der scheineroperierten Tiere wurde mit 100 % angenommen. $p < 0,05$ (+) $>$ (K)

4.1.2 GSH-Px-Aktivität

In beiden Tiergruppen konnten für die GSH-Px bei Vergleich von rechtem und linkem Ventrikel keine signifikanten Aktivitätsunterschiede nachgewiesen werden (MI: $81,1 \% \pm 22,3$ vs. $88,6 \% \pm 11$; K: $100 \% \pm 12,6$ vs. $101,6 \% \pm 11,6$) (Abb. 4a). Werden jeweils die Aktivitäten der rechten Ventrikel (MI $81,1 \% \pm 22,3$ vs. K: $100 \% \pm 12,6$) bzw. der linken Ventrikel (MI: $88,6 \% \pm 11$ vs. K: $101,6 \% \pm 11,6$) von Kontrollgruppe und MI-Gruppe verglichen, ergeben sich ebenfalls keine signifikanten Aktivitätsunterschiede. Es wird jedoch ersichtlich, dass die Mittelwerte der GSH-Px-Aktivität sowohl im rechten als auch im linken Ventrikel in der MI-Gruppe jeweils unter den Aktivitäten der Kontrollgruppe liegen (Abb. 4a).

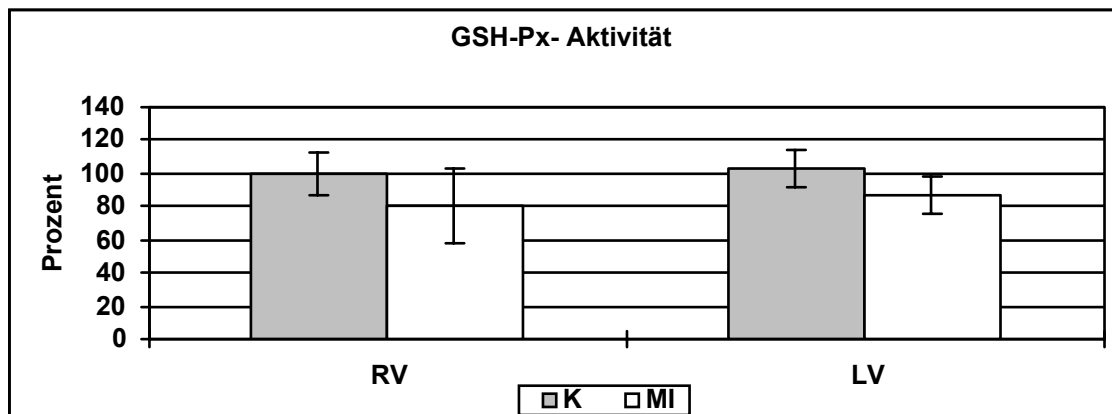


Abb. 4a: GSH-Px-Aktivität im rechten (RV) und linken Ventrikel (LV) 30-36 h nach Myokardinfarkt (MI) im Vergleich zu scheinputierten Kontrollen (K). Der Mittelwert für den rechten Ventrikel der scheinputierten Tiere wurde mit 100 % angenommen.

4.1.3 t- SOD- Aktivität

Weder in der MI-Gruppe (RV 84,1 % \pm 6,7 vs. LV 91,3 % \pm 7,8) noch in der Kontrollgruppe (K) (RV 100 % \pm 4,4 vs. LV 107,5 % \pm 3,7) wurden unterschiedliche t-SOD-Aktivitäten beim Vergleich von rechtem und linkem Ventrikel gefunden (Abb. 4b). Wird die t-SOD-Aktivität in den rechten Ventrikeln von Kontrollgruppe und MI-Gruppe verglichen, ist gleichfalls kein signifikanter Unterschied zu beobachten. Allerdings lag der Mittelwert für die t-SOD-Aktivität, wie auch für die GSH-Px zuvor beschrieben, in der MI-Gruppe unter dem der Kontrollgruppe (MI: 84,1 % \pm 6,7 vs. K: 100 % \pm 4,4). Deutlicher zeigte sich im linken Ventrikel die Verminderung der t-SOD-Aktivität in der MI-Gruppe in Vergleich zur Kontrollgruppe. Hier wurde eine mit $p < 0,1$ deutliche Tendenz zur t-SOD-Verminderung in der MI-Gruppe ermittelt (MI 91,3 % \pm 7,8 vs. K: 107,5% \pm 3,7) (Abb. 4b).

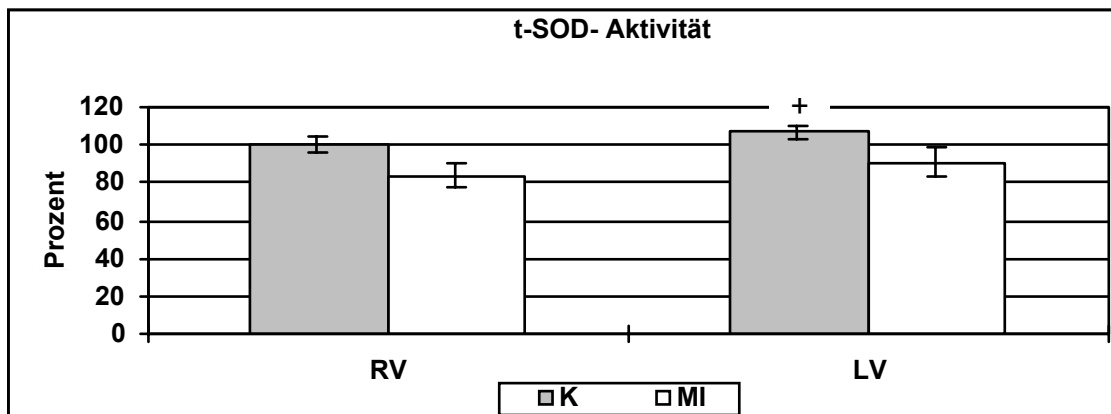


Abb. 4b: t-SOD-Aktivität im rechten (RV) und linken Ventrikel (LV) 30-36 h nach Myokardinfarkt (MI) im Vergleich zu scheineroperierten Kontrollen (K). Der Mittelwert für den rechten Ventrikel der scheineroperierten Tiere (K) wurde mit 100 % angenommen; signifikant $p \leq 0,1$ ((+)) > MI.

4.1.4 CuZnSOD-Aktivität

Auch für die CuZnSOD wurden weder in der Kontrollgruppe (RV 100 % \pm 4,8 vs. LV 107,3 % \pm 3,9) noch in der MI-Gruppe (RV 82 % \pm 8 vs. 97,1 % \pm 7,9) unterschiedliche Aktivitäten beobachtet, wenn jeweils der rechte und linke Ventrikel verglichen wurden (Abb. 4c). Auch beim Vergleich der CuZnSOD-Aktivität im rechten (82 % \pm 8 vs. 100 % \pm 4,8) bzw. linken Ventrikel (97,1 % \pm 7,9 vs. 107,3 % \pm 3,9) von Kontrollgruppe und MI-Gruppe ließen sich keine signifikanten Unterschiede nachweisen, jedoch lagen auch für die CuZnSOD die Mittelwerte in der MI-Gruppe unter denen der Kontrollgruppe. Für den linken Ventrikel konnte dies tendenziell ($p = 0,12$) auch statistisch belegt werden (Abb. 4c).

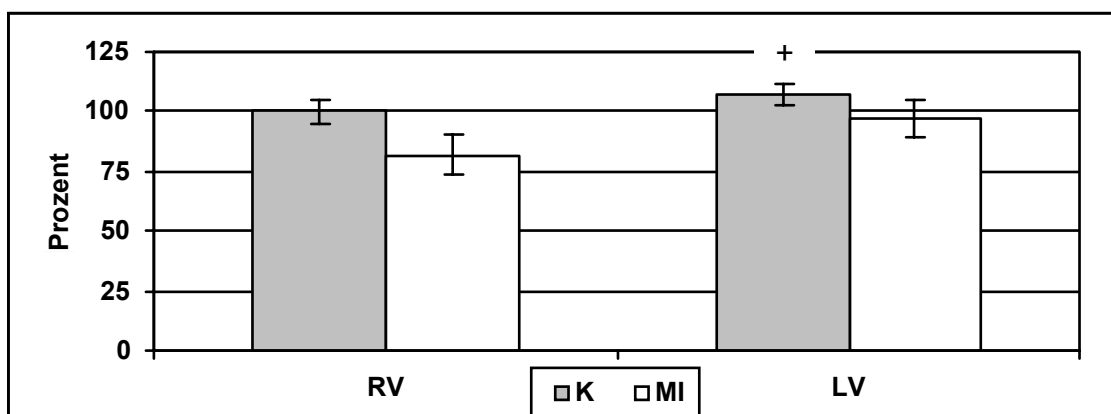


Abb. 4c: CuZnSOD-Aktivität im rechten (RV) und linken Ventrikel (LV) 30-36 h nach Myokardinfarkt (MI) im Vergleich zu scheineroperierten Kontrollen (K). Der Mittelwert für den rechten Ventrikel der scheineroperierten Tiere wurde mit 100 % angenommen; sign. $p = 0,1$: (+) K vs. MI

4.1.5 MnSOD-Aktivität

Signifikante Aktivitätsunterschiede wurden für die MnSOD nicht beobachtet, wenn Kontrollgruppe (RV: 100 % \pm 6,6 vs. LV: 110,1 % \pm 5,9) und MI-Gruppe (RV: 85,5 % \pm 1,1 vs. LV: 84,2 % \pm 4,2) hinsichtlich der Aktivitäten im rechten bzw. linken Ventrikel verglichen wurden (Abb. 4d). Während im rechten Ventrikel der Mittelwert der MnSOD-Aktivität in der MI-Gruppe unter dem der Kontrollgruppe lag (MI: 85,5 % \pm 1,1 vs. K: 100 % \pm 6,6), ohne dass dies statistisch einen Unterschied machte, war die MnSOD-Aktivität 30-36 h nach MI im linken Ventrikel im Vergleich zu den scheineroperierten Kontrolltieren signifikant erniedrigt (MI: 84,2 % \pm 4,2 vs. 110,1 % \pm 5,9, $p < 0,05$) (Abb. 4d).

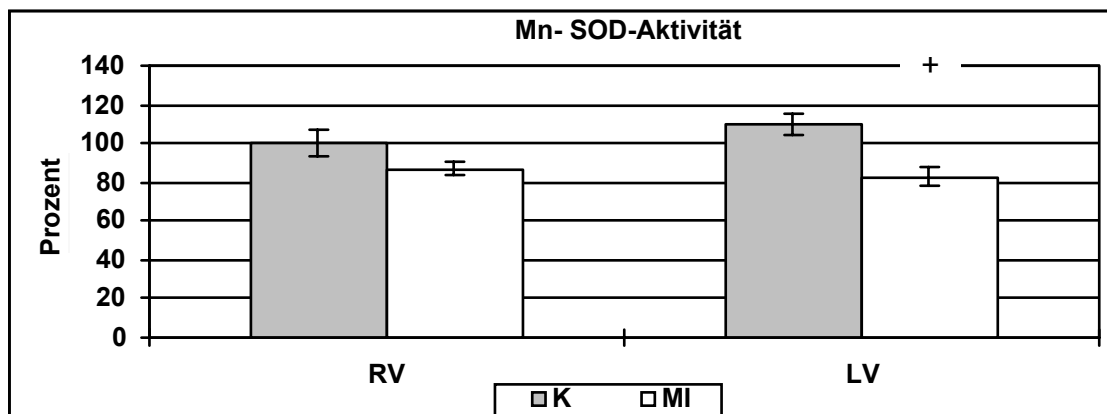


Abb. 4d: MnSOD-Aktivität im rechten (RV) und linken Ventrikel (LV) 30-36 h nach Myokardinfarkt (MI) im Vergleich zu scheineroperierten Kontrollen (K). Der Mittelwert für den rechten Ventrikel der scheineroperierten Tiere (K) wurde mit 100 % angenommen; (LV + MI < K; sign. p (+) < 0,05)

4.1.6 Zusammenfassung Sauerstoffradikal-Stoffwechsel nach Myokardinfarkt - akute Phase -

Nach MI kam es sowohl im rechten als auch im linken Ventrikel im Vergleich zu scheineroperierten Tieren zu einer signifikanten Zunahme der LPO-Konzentration. Die gesteigerte Lipidperoxidation war im linken Ventrikel mit einem Verlust an enzymatischer antioxidativer Kapazität verbunden, nachzuweisen an dem tendenziellen Aktivitätsverlust von t-SOD und CuZnSOD sowie dem signifikanten Aktivitätsabfall der MnSOD. Der Stoffwechsel linker wie rechter Ventrikel verhält sich gleichsinnig, offenbar unabhängig vom Ort einer Schädigung.

4.2 Studie II - chronische Phase

4.2.1 Quantitative Beziehungen zwischen der Infarktgröße und dem LVEDP, dem Körpergewicht, den Ventrikelgewichten und den Herzhypertrophieindizes zur Charakterisierung einer Herzhypertrophie (6 Wochen nach Myokardinfarkt)

Trotz gleicher Operationstechnik variierte die Infarktgröße stark. In den Abbildungen werden - unter Einbeziehung der Kontrollgruppe und der Placebogruppe - quantitative Zusammenhänge zwischen den zur Charakterisierung der myokardinfarktinduzierten Herzschädigung genutzten Parametern und der Infarktgröße dargestellt. Die Abb. 5j zeigt einen signifikant linearen Zusammenhang von Infarktgröße (IF) und LVEDP. Signifikante lineare Zusammenhänge existieren auch zwischen Infarktgröße und Gesamtventrikelgewicht (VG, Abb. 5c), rechtem Ventrikelgewicht (RVG, Abb. 5b), Gesamtventrikelgewicht/Körpergewicht (VG/KG, Abb. 5d) und RVG/KG (Abb. 5g). Der Zusammenhang zwischen der Infarktgröße und linksventrikulärem Gewicht (LVG) (Abb. 5a) und LVG/KG (Abb. 5e) wird am besten durch eine quadratische Beziehung beschrieben. Eine lineare Beziehung zwischen Infarktgröße und LVG (Abb. 5a) bzw. LVG/KG (Abb. 5e) existierte nur bis zu einer Infarktgröße von 45 Prozent.

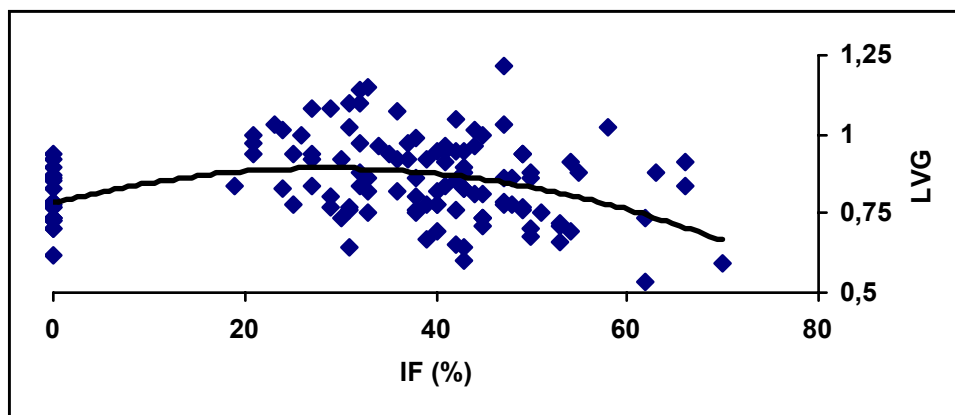


Abb. 5a: Infarktgröße (IF) vs. linksventrikuläres Gewicht (LVG), Signifikanz $p < 0,001$

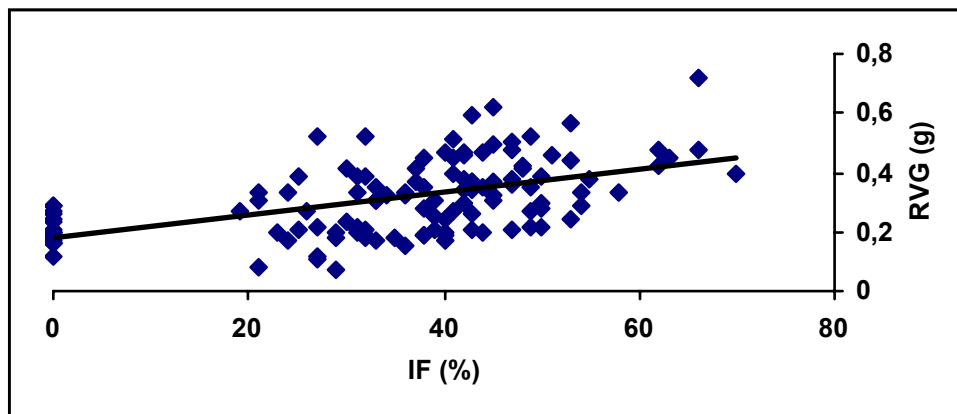


Abb. 5b: Infarktgröße (IF) vs. rechtsventrikuläres Gewicht (RVG), Signifikanz $p < 0,01$

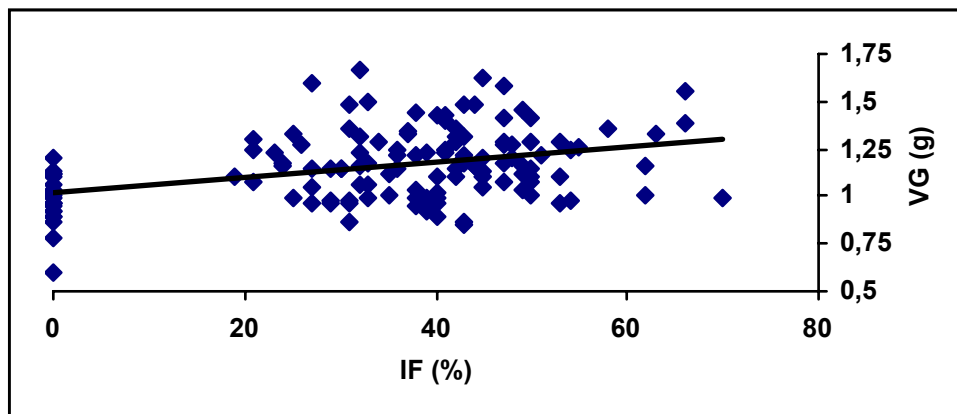


Abb. 5c: Infarktgröße (IF) vs. Ventrikelgewicht (VG); Signifikanz $p < 0,01$

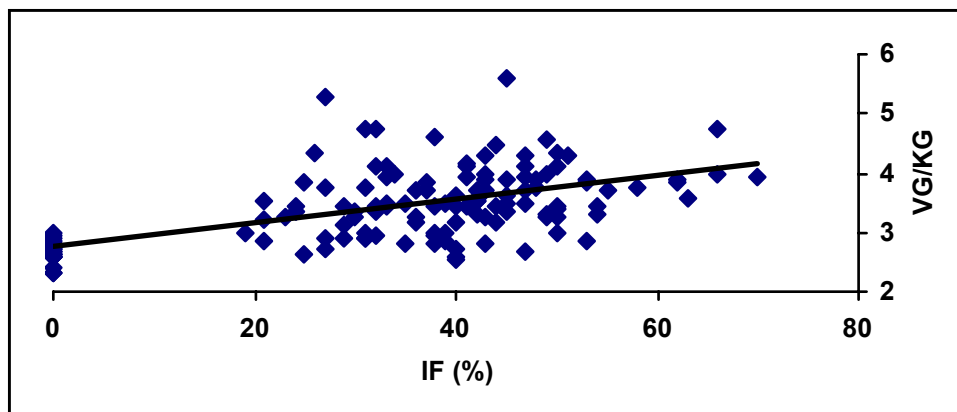


Abb. 5d: Infarktgröße (IF) vs. Hypertrophieindex (Ventrikelgewicht (VG)/Körpergewicht (KG)) Signifikanz $p < 0,05$

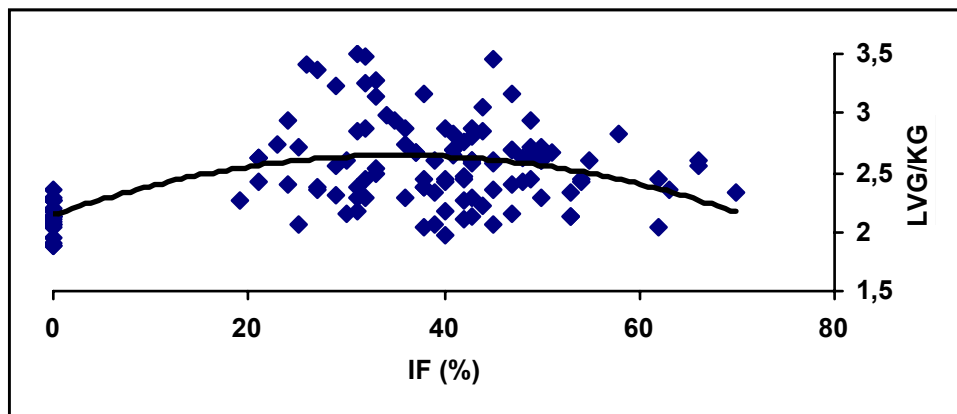


Abb. 5e: Infarktgröße (IF) vs. Hypertrophieindex (Linksventrikuläres Gewicht (LVG)/Körpergewicht (KG));
Signifikanz $p < 0,001$

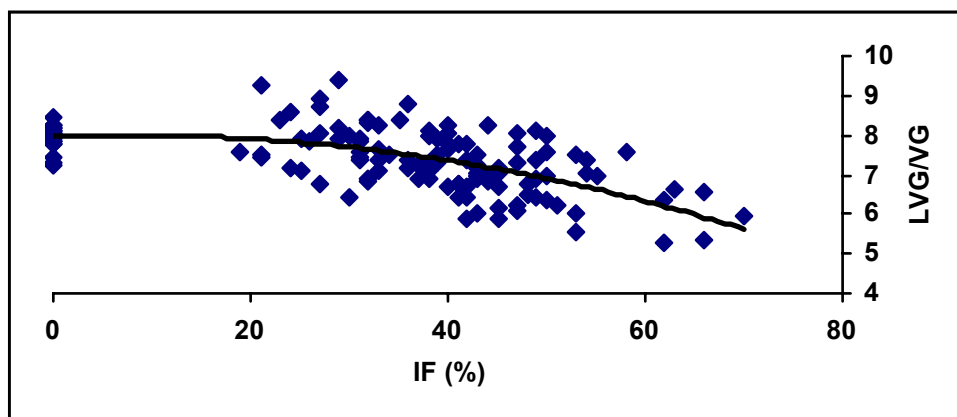


Abb. 5f: Infarktgröße (IF) vs. Hypertrophieindex (Linksventrikuläres Gewicht (LVG)/Ventrikelgewicht (VG));
Signifikanz $p < 0,001$

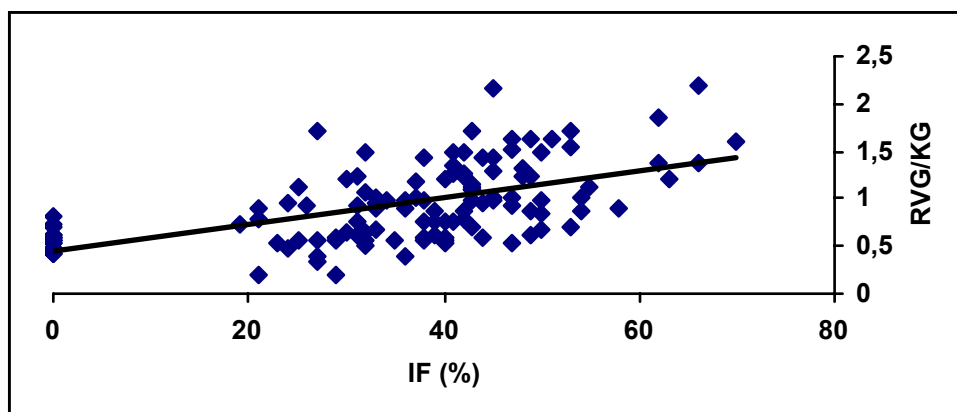


Abb. 5g: Infarktgröße (IF) vs. Hypertrophieindex, (Rechtsventrikuläres Gewicht (RVG)/Körpergewicht (KG));
Signifikanz $p < 0,07$

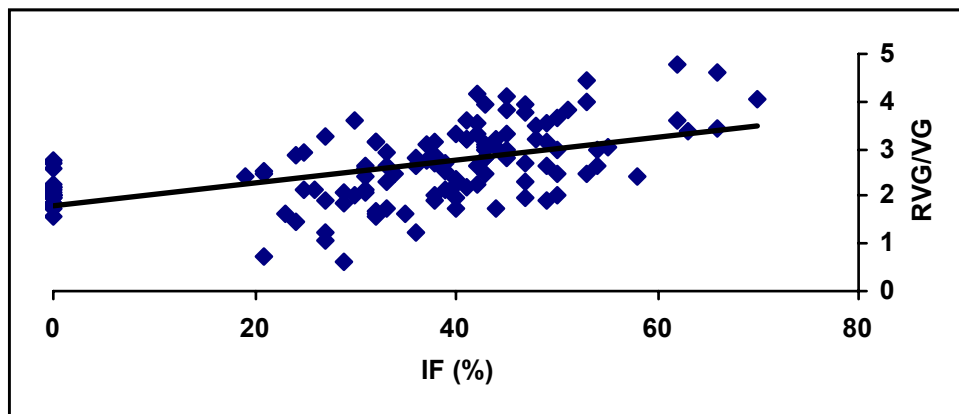


Abb. 5h: Infarktgröße (IF) vs. Hypertrophieindex, (Rechtsventrikuläres Gewicht (RVG)/Ventrikelgewicht (VG); Signifikanz $p < 0,01$

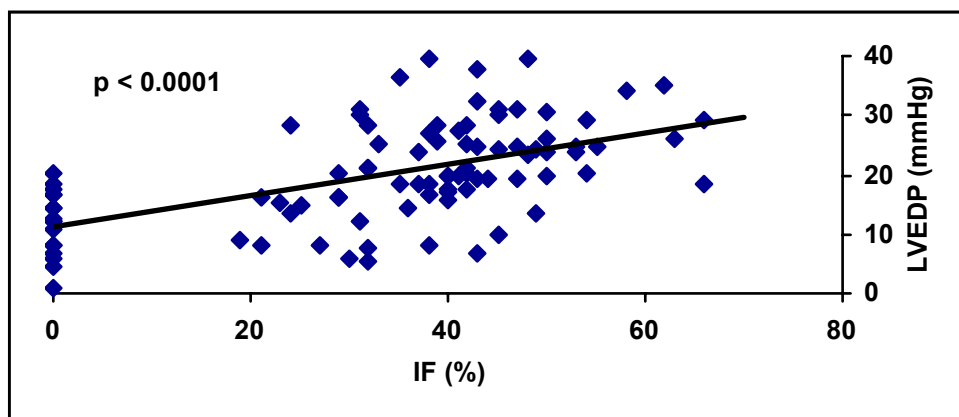


Abb. 5j: Infarktgröße (IF) vs. linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDP), Signifikanz $p < 0,0001$

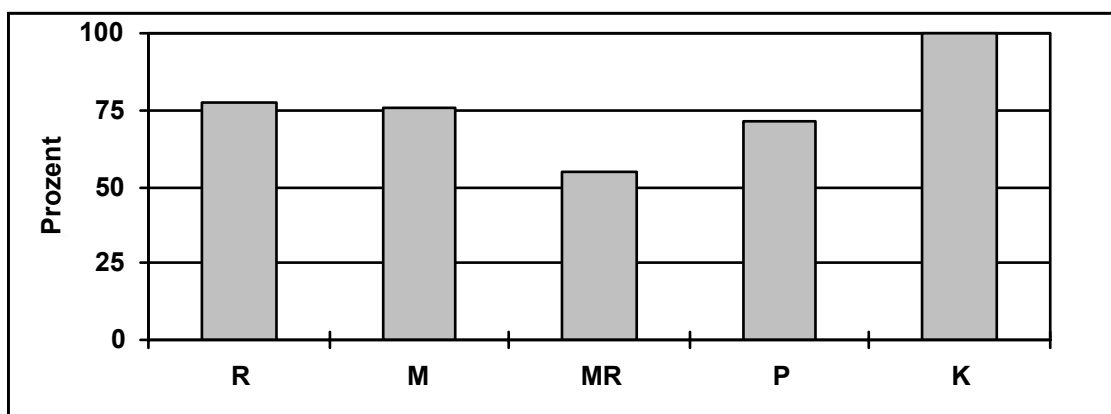


Abb. 6a: Prozentuale Darstellung (bezogen auf die Gesamtzahl der überlebenden Tiere) der in die Analyse eingeschlossenen scheinooperierten Tiere (K) und der Tiere mit Transmuralfarkt $> 20\%$, behandelt mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril (MR) und Placebo (P).

4.2.1.1 Placebobehandlung

Die Infarktgröße betrug 6 Wochen nach Ligaturinfarkt in der Gruppe der placebobehandelten Tiere $43,1 \% \pm 2,1$, bezogen auf die Gesamtgröße des linken Ventrikels (Abb. 6b).

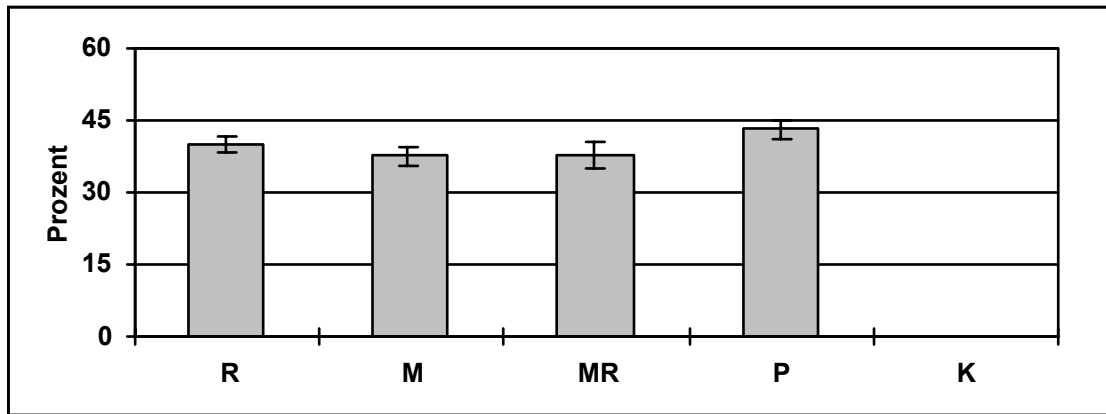


Abb. 6b: Infarktgrößen (IG) 6 Monate nach Myokardinfarkt bezogen auf die Gesamtgröße des linken Ventrikels in scheineroperierten Tieren (K) und den Tieren mit Myokardinfarkt behandelt mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril (MR) und Placebo (P).

6 Wochen nach Myokardinfarkt unterscheiden sich die placebo-behandelten Tiere mit MI im Körpergewicht nicht von den altersgerechten Kontrolltieren ($349 \text{ g} \pm 6,7$ vs. $367 \text{ g} \pm 9,2$) (Abb. 7a). Signifikant erhöht waren nach MI jedoch das Gesamtgewicht beider Ventrikel (VG) (Abb. 7b) ($1,26 \text{ g} \pm 0,03$ vs. $0,98 \text{ g} \pm 0,03$) und das Gewicht des linken ($0,89 \text{ g} \pm 0,02$ vs. $0,78 \text{ g} \pm 0,01$) (Abb. 7e) und rechten Ventrikels ($0,37 \text{ g} \pm 0,02$ vs. $0,20 \text{ g} \pm 0,01$) (Abb. 7d). Auch die Hypertrophieindizes Gesamtventrikelgewicht zu Körpergewicht (VG/KG) (Abb. 7c) ($3,70 \text{ mg/g} \pm 0,08$ vs. $2,68 \text{ mg/g} \pm 0,04$) und Gewicht des rechten Ventrikels zu Körpergewicht (RVG/KG) ($1,12 \text{ mg/g} \pm 0,07$ vs. $0,81 \text{ mg/g} \pm 0,06$) (Abb. 7f) waren bei den Tieren mit MI signifikant erhöht. Das Verhältnis vom Gewicht des linken Ventrikels zum Körpergewicht (LVG/KG) zeigte nur eine Tendenz zur Erhöhung vs. Kontrolle ($2,42 \text{ mg/g} \pm 0,13$ vs. $2,12 \text{ mg/g} \pm 0,03$) (Abb. 7g).

4.2.1.2 Behandlung mit Ramipril, Metoprolol und Metoprolol/Ramipril-Kombination

Die Infarktgrößen in den Behandlungsgruppen (R, M, MR) lagen im Mittel geringfügig unter der Infarktgröße in den placebobehandelten Tieren ($39,9 \% \pm 1,84$ vs. $37,57 \% \pm 1,91$ vs. $37,75 \% \pm 2,76$ vs. $43,12 \% \pm 2,07$), ohne dass dies als statistisch gesicherter Unterschied anzusehen ist (Abb. 6b). Das Körpergewicht in allen drei behandelten Gruppen (R, M, MR) lag signifikant unter

dem der Kontrollgruppe ($341 \text{ g} \pm 6,3$ vs. $318 \text{ g} \pm 6,0$ vs. $328 \text{ g} \pm 5,5$ vs. $367 \text{ g} \pm 9,2$) (Abb. 7a). Signifikant vermindert war das Körpergewicht in Gruppe M und MR auch gegenüber den placebobehandelten Tieren. Das niedrigste Körpergewicht wiesen die Tiere mit Metoprololbehandlung (M) auf, deren Körpergewichte auch gegenüber denen der Tiere mit Ramiprilbehandlung (R) signifikant niedriger waren.

Alle Tiergruppen zeigten unter der Behandlung (R, M, MR) im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant gesteigerte Gesamtventrikelgewichte (VG) ($1,17 \text{ g} \pm 0,03$ vs. $1,21 \text{ g} \pm 0,03$ vs. $1,15 \text{ g} \pm 0,01$ vs. $0,98 \text{ g} \pm 0,03$) (Abb. 7b). In Gruppe R und MR wurde jedoch eine signifikant geringere Gewichtszunahme als in der placebobehandelten Gruppe beobachtet ($1,17 \text{ g} \pm 0,03$ vs. $1,15 \text{ g} \pm 0,01$ vs. $1,26 \text{ g} \pm 0,03$). Das niedrigste VG in den Gruppen mit Myokardinfarkt wurde nach der kombinierten Behandlung mit Metoprolol und Ramipril (MR) beobachtet. In dieser Gruppe war das Gesamtventrikelgewicht zusätzlich auch gegenüber der Gruppe mit ausschließlicher Metoprololbehandlung (M) signifikant erniedrigt (Abb. 7b).

Während nach Myokardinfarkt, ebenso wie bei den placebobehandelten Tieren, das Gewicht des linken Ventrikels trotz Behandlung mit Ramipril (R) bzw. Metoprolol (M) gegenüber den scheinoperierten Tieren signifikant gesteigert war ($0,87 \text{ g} \pm 0,01$ vs. $0,86 \text{ g} \pm 0,02$ vs. $0,78 \text{ g} \pm 0,01$), wurde eine signifikante Gewichtszunahme des linken Ventrikels nach kombinierter Behandlung (MR) nicht beobachtet (Abb. 7e). Im Vergleich zur Placebobehandlung zeigte sich dadurch ein signifikant niedrigeres linksventrikuläres Gewicht in der Gruppe MR ($0,89 \text{ g} \pm 0,02$ vs. $0,81 \text{ g} \pm 0,03$). Vergleichbare Verhältnisse ergaben sich auch bei der Analyse des rechten Ventrikels. Die geringste Gewichtszunahme nach Myokardinfarkt wurde wiederum in der Gruppe MR beobachtet (Abb. 7d). Trotz Behandlung in Gruppe R und M stieg das rechtsventrikuläre Gewicht im Vergleich zu den scheinoperierten Kontrollen signifikant an ($0,27 \text{ g} \pm 0,02$ vs. $0,35 \text{ g} \pm 0,02$ vs. $0,2 \text{ g} \pm 0,01$). In Gruppe MR ($0,26 \text{ g} \pm 0,2$) wurde ein solcher Anstieg gegenüber der Kontrollgruppe nur als Tendenz ($p < 0,1$) sichtbar. Außer in MR lag das rechtsventrikuläre Gewicht in Gruppe R signifikant unter dem der Placebogruppe bzw. unter dem der Gruppe M ($0,26 \text{ g} \pm 0,02$ vs. $0,27 \text{ g} \pm 0,02$ vs. $0,38 \text{ g} \pm 0,02$ vs. $0,35 \text{ g} \pm 0,02$) (Abb. 7d).

Beim Gesamtventrikel/Körpergewicht-Verhältnis zeigten sich trotz der Behandlung (R, M, MR) im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikante Zunahmen ($3,4 \text{ mg/g} \pm 0,16$ vs. $3,8 \text{ mg/g} \pm 0,11$ vs. $3,3 \text{ mg/g} \pm 0,15$ vs. $2,68 \text{ mg/g} \pm 0,04$) (Abb. 7c). Die geringste Zunahme wurde in der Gruppe

MR beobachtet, die, wie auch Gruppe R, signifikant unter der der placebo-behandelten Tiere ($3,7 \pm 0,08$ mg/g) lag.

Das Verhältnis vom linken Ventrikel zum Körpergewicht (Abb. 7g) lag nur bei Tieren der Gruppe M, nicht jedoch der Gruppen R und MR signifikant über dem der Kontrollgruppe ($2,68 \pm 0,07$ mg/g vs. $2,42 \pm 0,13$ mg/g vs. $2,37 \pm 0,14$ mg/g vs. $2,12 \pm 0,03$ mg/g). Für Gruppe R und MR zeigte sich im Vergleich zur Kontrollgruppe nur die Tendenz zur Erhöhung, wobei für Gruppe MR im Mittel die geringste Zunahme beim Vergleich der Behandlungsgruppen ausgewiesen werden konnte.

In allen Behandlungsgruppen (R, M, MR) stieg das Verhältnis des rechten Ventrikels zum Körpergewicht im Vergleich zur Kontrollgruppe an ($0,88$ mg/g $\pm 0,08$ vs. $1,2$ mg/g $\pm 0,07$ vs. $0,81$ mg/g $\pm 0,06$ vs. $0,55$ mg/g $\pm 0,02$) (Abb. 7f). Die geringste Zunahme wurde in Gruppe MR beobachtet, deren Zunahme damit signifikant unter der der Placebo- ($1,10$ mg/g $\pm 0,07$) und M-Gruppe lagen. Signifikant niedriger als in der Placebogruppe war die Zunahme auch in Gruppe R (Abb. 7f).

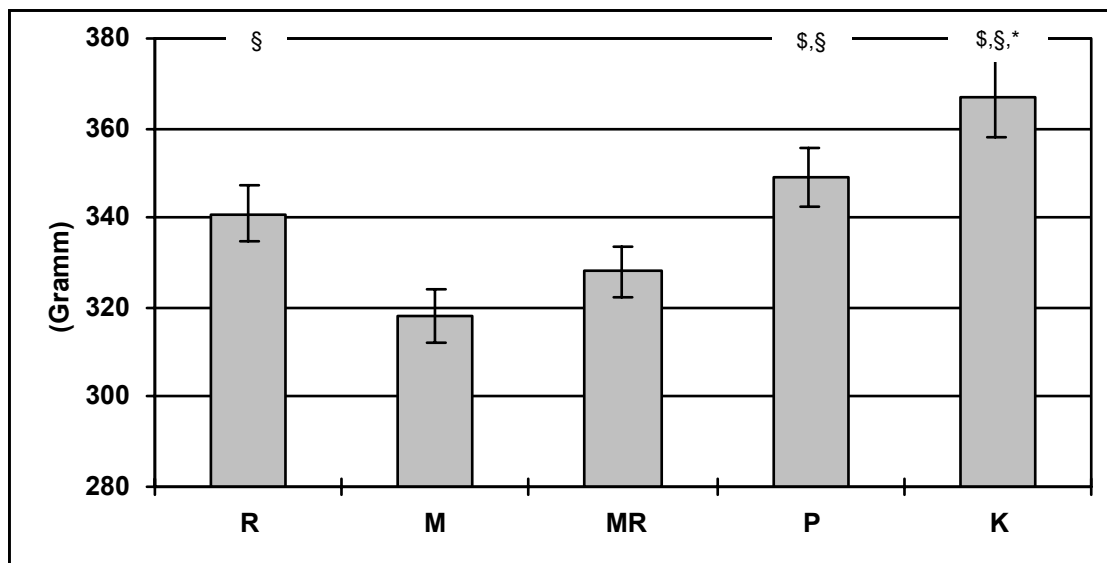


Abb. 7a: Körpergewicht (KG) 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril (MR), Placebo (P) im Vergleich zu scheineroperierten Kontrolltieren (K); sign. $p < 0,05$: (§) $>$ (MR), (§,§) $>$ M, (*) $>$ R.

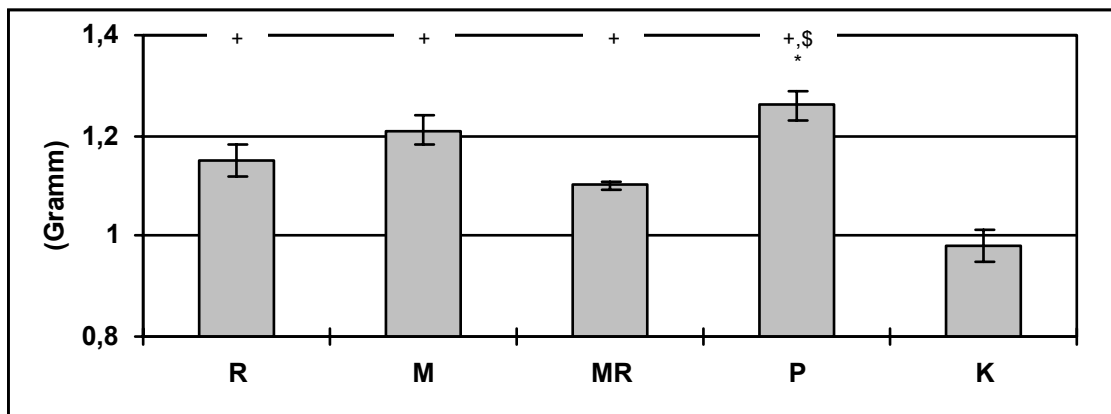


Abb. 7b: Gesamtgewicht beider Ventrikel (VG) 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinooperierten Kontrolltieren (K); sign. $p < 0,05$: (+) > (K), (\$) > MR, (*) > R.

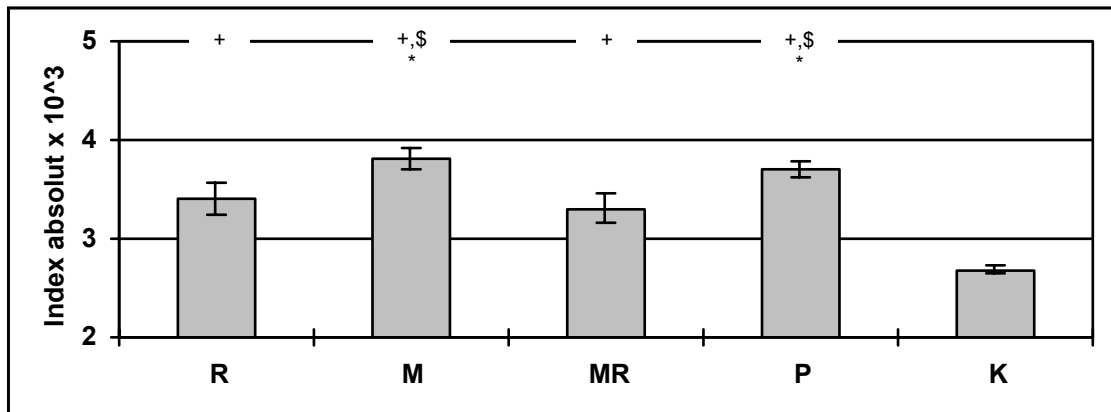


Abb. 7c: Ventrikelgewicht/Körpergewicht (VG/KG) 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinooperierten Kontrolltieren (K) ; sign. $p < 0,05$: (+) > (K), (\$) > (MR), (*) > R

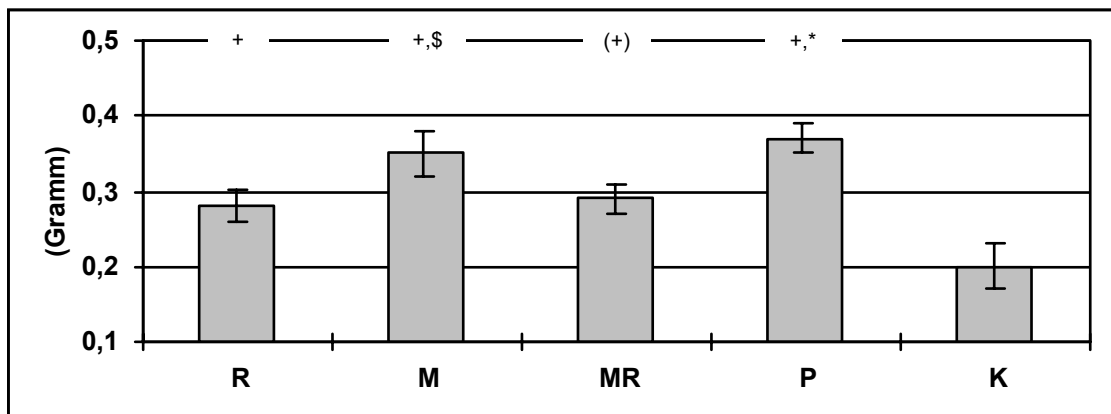


Abb. 7d: Gewicht des rechten Ventrikels (RVG) 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheineroperierten Kontrolltieren (K); sign. $p < 0,05$: (+) > (K), (\$) > (MR), (*) > (R); $p < 0,1$ ((+)) > (K)

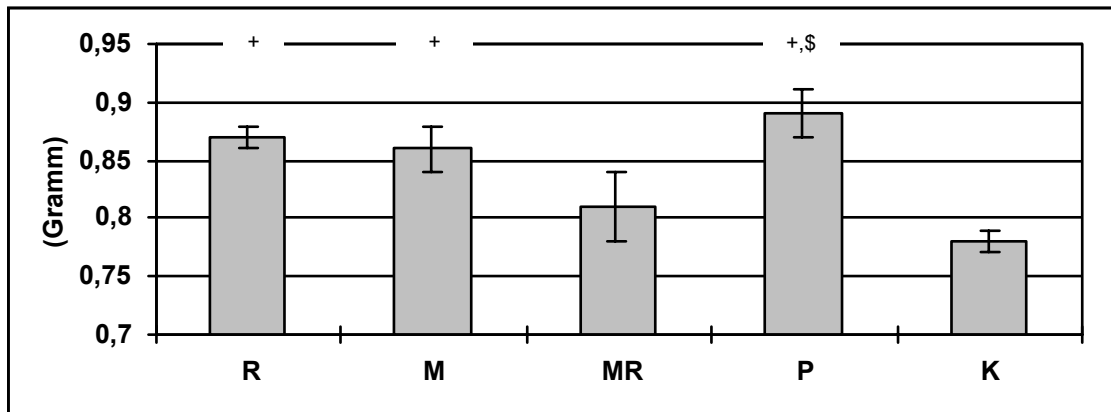


Abb. 7e: Gewicht des linken Ventrikels (LVG) 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheineroperierten Kontrolltieren (K); sign. $p < 0,05$: (+) > (K), (\$) > MR

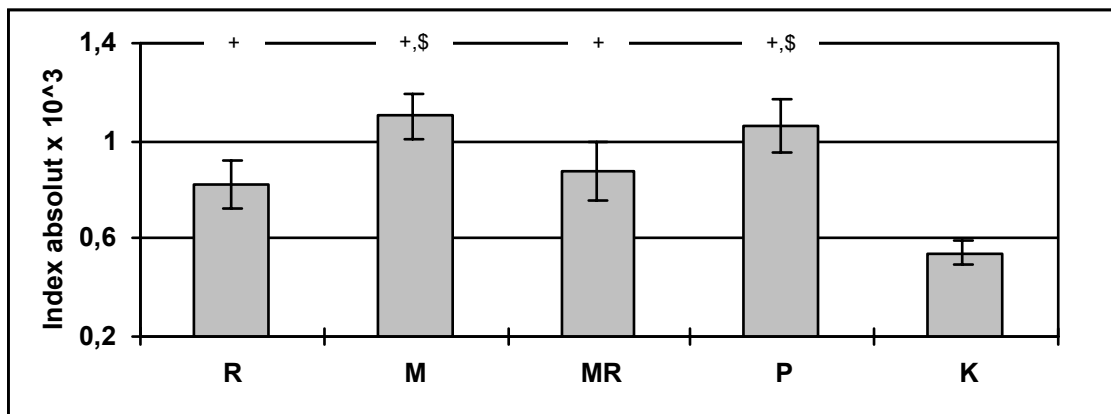


Abb. 7f: Gewicht des rechten Ventrikels/Körpergewicht (RVG/KG) 6 Monate nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheineroperierten Kontrolltieren (K); sign. $p < 0,05$: (+) > (K), (\$) > (MR)

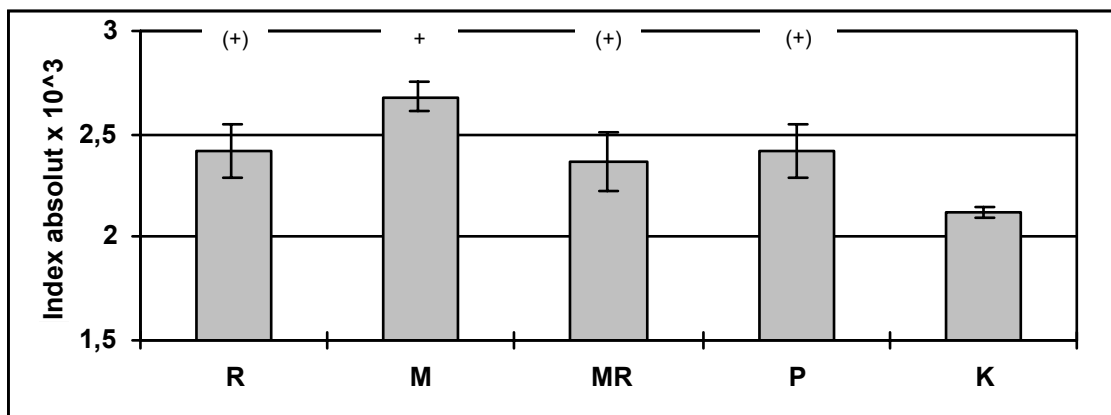


Abb. 7g: Gewicht des linken Ventrikels/Körpergewicht (LVG/KG) 6 Monate nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheineroperierten Kontrolltieren (K), sign. $p < 0,05$: (+) > (K); $p < 0,1$ ((+)) > (K)

4.2.2 Linksventrikulärer enddiastolischer Druck (LVEDP) 6 Wochen nach Infarkt

4.2.2.1 Placebobehandlung

Die placebobehandelten Tiere wiesen 6 Wochen nach Myokardinfarkt im Vergleich zu der Kontrollgruppe einen signifikant höheren LVEDP auf ($24,0 \text{ mmHg} \pm 1,4$ vs. $12,2 \text{ mmHg} \pm 1,3$) (Abb. 8).

4.2.2.2 Behandlung mit Ramipril, Metoprolol und Metoprolol/Ramipril-Kombination

Trotz der Behandlung zeigte sich in allen Gruppen (R, M, MR) ein signifikanter Anstieg des LVEDP nach MI im Vergleich zur Kontrollgruppe ($20,8 \text{ mmHg} \pm 1,9$ vs. $22,5 \text{ mmHg} \pm 2,3$ vs. $18,3 \text{ mmHg} \pm 1,6$ vs. $12,2 \text{ mmHg} \pm 1,3$) (Abb. 8). Im Vergleich zur placebobehandelten Gruppe ($24,0 \text{ mmHg} \pm 1,4$) war der LVEDP-Anstieg in der Gruppe MR signifikant geringer (Abb. 8).

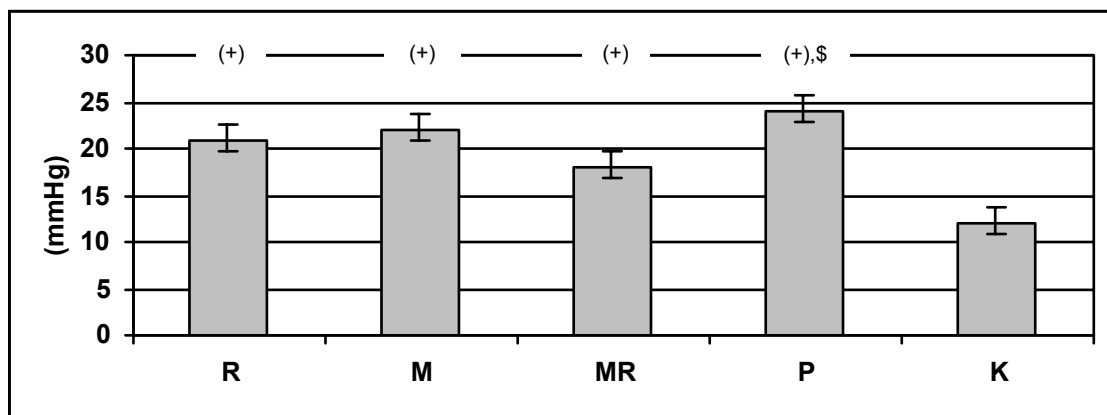


Abb. 8: LVEDP 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinooperierten Kontrolltieren (K); sign. $p \leq 0,05$: (+) > K; (\$) > (MR)

4.2.3 Kontraktile Funktion der isolierten Papillarmuskeln 6 Wochen nach Infarkt

4.2.3.1 Placebobehandlung

6 Wochen nach MI wurde in der placebobehandelten Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe eine gestörte kontraktile Funktion der isolierten Papillarmuskeln beobachtet. Dies wird bei den placebobehandelten Tieren anhand der verminderten Kraftanstiegsgeschwindigkeit ($dF/dt_{\max}/F$) ($25,9 \pm 0,4$ vs. $29,0 \pm 0,5 \text{ s}^{-1}$), des geringeren „Äquivalents für die maximale Verkürzungsgeschwindigkeit der Sarkomere“ (v_{\max} -Äquivalent) ($141,9 \pm 5,0$ vs. $154,1 \pm 4,3 \text{ s}^{-1}$) sowie der

Verlängerung der Kraftentwicklungszeit (TPF = time to peak force) (160 ± 2 vs. 143 ± 3 ms) und Relaxationszeit (RT50) (90 ± 3 vs. 80 ± 2 ms) sichtbar (Abb 9a-d).

4.2.3.2 *Behandlung mit Ramipril, Metoprolol und Metoprolol/ Ramipril- Kombination*

Trotz der Behandlung der Infarkttiere mit Ramipril oder Metoprolol war die Kraftanstiegsgeschwindigkeit gegenüber den placebobehandelten Tieren unverändert ($27,3 \pm 0,6$ vs. $25,9 \pm 0,7$ vs. $25,9 \pm 0,4$ s⁻¹) und damit analog zur Placebogruppe signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe ($29,0 \pm 0,5$ s⁻¹). Im Gegensatz dazu lag die Kraftanstiegsgeschwindigkeit in der Gruppe mit kombinierter Metoprolol- und Ramipril-Gabe ($28,3 \pm 0,9$ s⁻¹) signifikant über der der Placebogruppe und der Gruppe M. Dadurch war die Kraftanstiegsgeschwindigkeit in Gruppe MR nicht signifikant verschieden von der Kontrollgruppe (Abb. 9a). Das v_{\max} -Äquivalent (Abb. 9b) lag nach der Metoprololbehandlung im Bereich der Placebogruppe und damit signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe ($141,9 \pm 5,1$ vs. $141,9 \pm 5,0$ vs. $154,1 \pm 4,3$ s⁻¹). Nach Ramiprilbehandlung lag v_{\max} -Äquivalent ($149,6 \pm 3,4$ s⁻¹) zwischen dem Wert für die Kontroll- und Placebogruppe, so dass gegenüber beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied zu erkennen war. Im Gegensatz dazu war v_{\max} -Äquivalent in Gruppe MR ($157,8 \pm 9,6$ s⁻¹) im Mittel sogar höher als in der Kontrollgruppe, ohne dass dies als statistischer Unterschied gesichert werden konnte. Signifikant höher war v_{\max} -Äquivalent in MR (im Vergleich zu Gruppe P und M). Hinsichtlich TPF (156 ± 2 vs. 164 ± 3 vs. 155 ± 3 vs. 143 ± 3 ms) und RT50 (89 ± 2 vs. 92 ± 2 vs. 89 ± 2 vs. 80 ± 2 ms) zeigten R, M und MR eine signifikante Verlangsamung gegenüber der Kontrollgruppe (Abb. 9c/d). Für Gruppe MR war die TPF-Verlangsamung jedoch geringer als für Gruppe M.

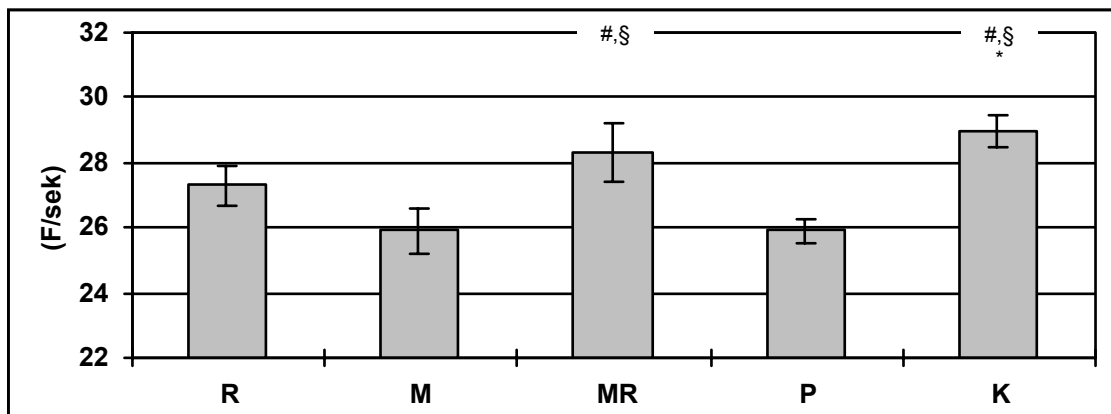


Abb. 9a: Kraftanstiegsgeschwindigkeit dF/dt_{\max} 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinooperierten Kontrolltieren (K); sign. $p < 0,05$: (#) > (P), (§) > (M), (*) > (R)

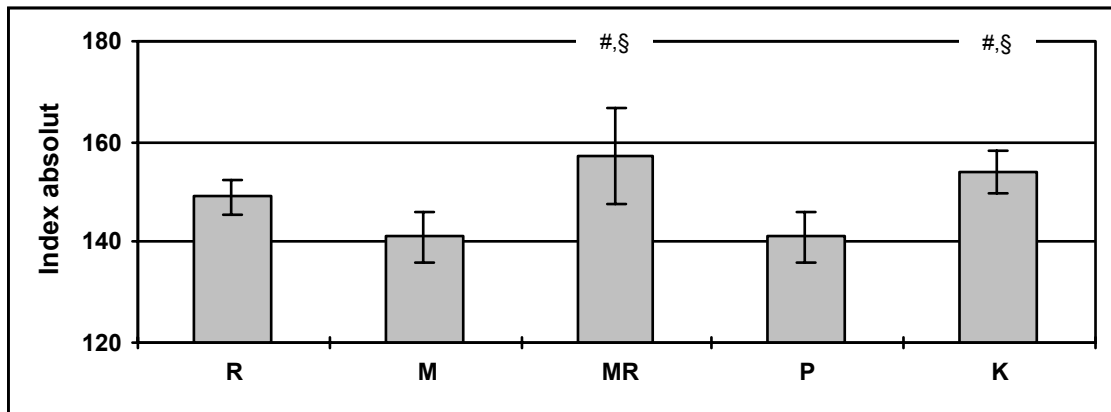


Abb. 9b: v_{\max} -Äquivalent 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinooperierten Kontrolltieren (K); sign. $p < 0,05$: (#) > (P); (§) > (M)

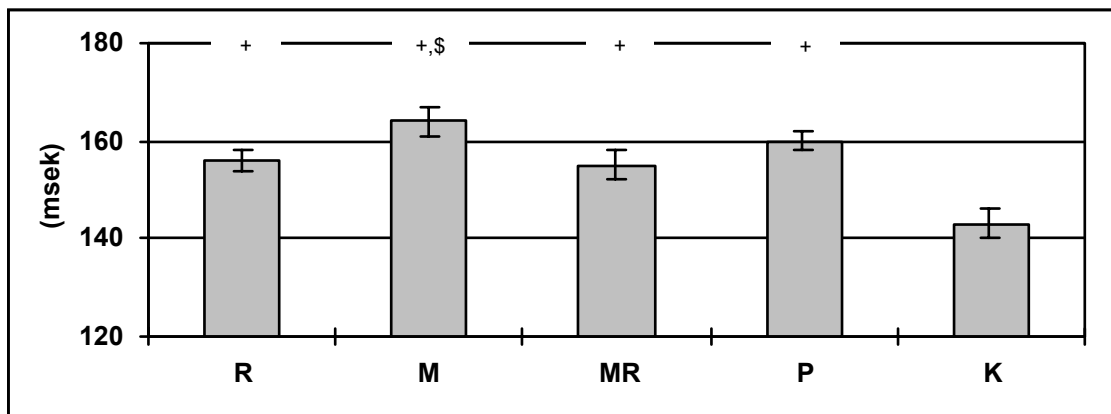


Abb. 9c: Vergleich der Kraftentwicklungszeit (TPF) 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinooperierten Kontrolltieren (K); sign. $p < 0,05$: (+) $> K$, (\$) $> (MR)$

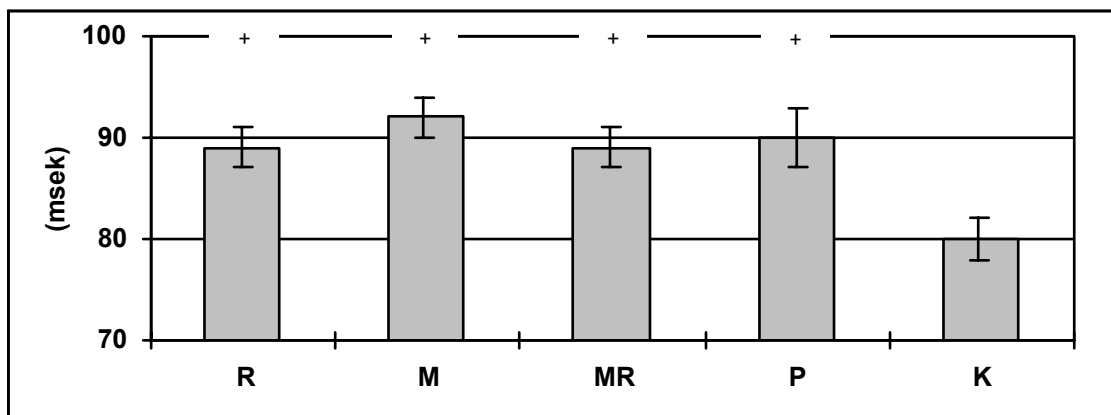


Abb. 9d: Relaxationszeit (RT50) 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinooperierten Kontrolltieren (K); sign. $p < 0,05$: (+) $> K$

4.2.4 Charakterisierung des Sauerstoffradikal-Stoffwechsels 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter medikamentöser Therapie (Placebo (P), Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril (MR))

Sechs Wochen nach Myokardinfarkt wurden die Tiere ($n = 131$) nach LVEPD-Messung getötet und das Myokardgewebe aus dem rechten und linken Ventrikel wurde im Vergleich zu „scheinooperierten“ Kontrollen (K) analysiert.

4.2.4.1 Lipidperoxidkonzentration unter Placebobehandlung (P)

Nach Myokardinfarkt und Behandlung mit Placebo wurden sowohl im rechten Ventrikel (Angaben in nmol/mg Eiweiß) ($0,54 \pm 0,01$ vs. $0,26 \pm 0,03$) als auch im linken Ventrikel ($0,45 \pm 0,05$ vs. $0,25 \pm 0,03$) im Vergleich zu scheinoperierten Tieren (K) signifikant gesteigerte LPO-Konzentrationen gefunden (Abb.10 a/b).

4.2.4.2 Lipidperoxidkonzentration unter Behandlung mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/ Ramipril (MR)

Beim Vergleich der LPO-Konzentrationen im rechten und linken Ventrikels ließen sich für keine Gruppe signifikante Unterschiede nachweisen (Tab.2).

Tab. 2: Lipidperoxidkonzentration (nmol/mg Eiweiß) im rechten (RV) und linken Ventrikel (LV 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinoperierten Kontrolltieren (K)

Therapie	RV	LV	Sign.
R	$0,40 \pm 0,03$	$0,42 \pm 0,04$	n.s.
M	$0,38 \pm 0,04$	$0,40 \pm 0,04$	n.s.
MR	$0,37 \pm 0,04$	$0,36 \pm 0,05$	n.s.
P	$0,54 \pm 0,1$	$0,45 \pm 0,05$	n.s.
K	$0,26 \pm 0,03$	$0,25 \pm 0,03$	n.s.

Im rechten Ventrikel ließen sich nach Behandlung mit Ramipril, Metoprolol und Metoprolol/Ramipril-Kombination LPO-Konzentrationen nachweisen, die im Mittel zwischen den LPO-Konzentrationen von Kontrollgruppe und Placebogruppe lagen (Abb. 10a). Im Vergleich zur Placebogruppe ($0,54 \pm 0,01$ nmol/mg Eiweiß) zeigten sich in Gruppe R ($0,40 \pm 0,03$ nmol/mg Eiweiß) und M ($0,38 \pm 0,03$ nmol/mg Eiweiß) eine Tendenz zu verminderten LPO-Konzentrationen ($p \leq 0,1$). Signifikant niedriger im Vergleich zu Placebo war die LPO-Konzentration im rechten Ventrikel der MR-Gruppe ($0,37 \pm 0,04$ nmol/mg Eiweiß). Damit wies die MR-Gruppe im Vergleich zur Placebogruppe die geringste LPO-Konzentration auf. Im Vergleich zur Kontrollgruppe ($0,26 \pm 0,03$ nmol/mg Eiweiß) waren die LPO-Konzentrationen nach Ramipril- und Metoprolol-Behandlungen in der Tendenz höher ($p \leq 0,1$). Diese Tendenz war für die Kombinationstherapie MR nicht nachweisbar. In Abb. 10b sind die LPO-Konzentrationen des linken Ventrikel dargestellt. Die LPO-Konzentrationen im linken Ventrikel von Tieren mit Myokardinfarkt und Ramipril- ($0,42 \pm 0,04$ nmol/mg Eiweiß) bzw. Metoprololtherapie ($0,40 \pm 0,04$ nmol/mg Eiweiß) unterschieden sich nicht signifikant von der LPO-Konzentration nach Placebogabe ($0,45 \pm 0,05$ nmol/mg Eiweiß). Ebenso wie bei Placebobehandlung wiesen die

Tiere nach Behandlung mit R bzw. M im Vergleich zu Kontrollen ($0,25 \pm 0,03$ nmol/mg Eiweiß) signifikant gesteigerte LPO-Konzentrationen im linken Ventrikel auf. Die niedrigste LPO-Konzentration im Vergleich zu den Gruppen R, M und P bzw. die geringste Zunahme an LPO im Vergleich zur Gruppe K wurde nach Behandlung mit MR ($0,36 \pm 0,05$ nmol/mg Eiweiß) gefunden. Als Ergebnis ließ sich für die LPO-Konzentration in MR weder ein signifikanter Unterschied zur Placebogruppe noch zur Kontrollgruppe nachweisen.

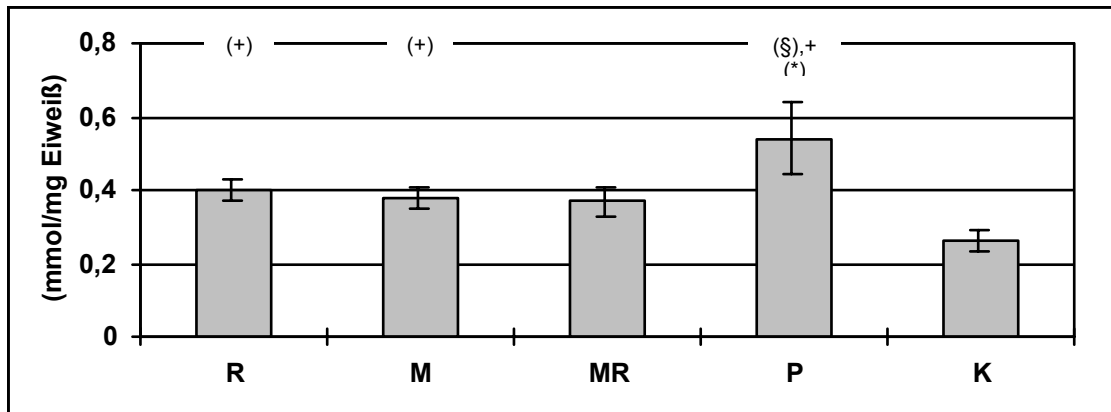


Abb. 10a: Lipidperoxidkonzentration im rechten Ventrikel 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol-Ramipril-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheineroperierten Kontrolltieren (K); sign. $p \leq 0,05$: (+) > (K), (*) > R, § > M

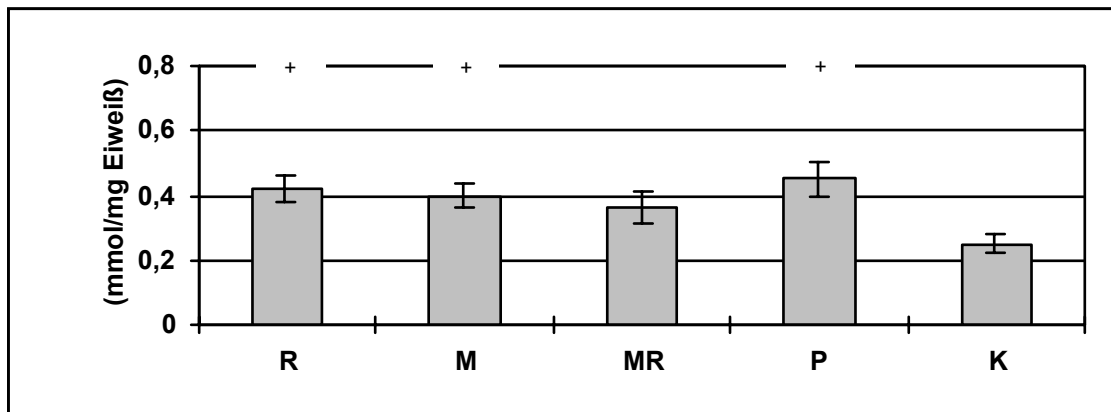


Abb. 10b: Lipidperoxidkonzentration im linken Ventrikel 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol-Ramipril-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheineroperierten Kontrolltieren (K); sign. $p \leq 0,05$: (+) > (K)

4.2.4.3 GSH-Px unter Placebobehandlung (P)

Sowohl im rechten ($259 \text{ U/l} \pm 32,8$) wie auch linken Ventrikel ($218 \text{ U/l} \pm 29,9$) war 6 Wochen nach Myokardinfarkt kein signifikanter Unterschied in der GSH-Px-Aktivität von Placebogruppe und Kontrollen festzustellen (Abb. 11a/b). Nur im Mittelwert liegt die GSH-Px-Aktivität im linken Ventrikel der placebobehandelten Tiere unter der der Kontrollgruppe ($258 \text{ U/l} \pm 30,8$).

4.2.4.4 GSH-Px unter Behandlung mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/ Ramipril (MR)

Der Vergleich von rechtem und linkem Ventrikel in den Gruppen R, P und K zeigte keine signifikanten Unterschiede in der GSH-Px-Aktivität. Nach Behandlung mit Metoprolol bzw. Metoprolol/Ramipril-Kombination war dagegen eine Tendenz zu niedrigerer GSH-Px-Aktivität im rechten Ventrikel offensichtlich (Tab. 3).

Tab. 3: GSH-Px- Aktivität (U/l) im rechten (RV) und linken Ventrikel (LV) 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Ramipril/Metoprolol-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinoperierten Kontrolltieren (K)

Therapie	RV	LV	Sign.
R	$438 \pm 38,2$	$442 \pm 47,4$	n.s.
M	$433 \pm 52,7$	$494 \pm 68,1$	$p \leq 0,1$
MR	$540 \pm 73,4$	634 ± 72	$p \leq 0,1$
P	$259 \pm 32,8$	$218 \pm 29,9$	n.s.
K	$254 \pm 32,7$	$258 \pm 30,8$	n.s.

Nach Myokardinfarkt und 6-wöchiger Behandlung wurden in allen drei Medikamentengruppen im Vergleich zu den Kontrollen signifikant höhere GSH-Px-Aktivitäten gefunden. Dieser Befund wurde sowohl im rechten Ventrikel (R: $438 \text{ U/l} \pm 38,2$ vs. M: $433 \text{ U/l} \pm 52,7$ vs. MR $540 \text{ U/l} \pm 73,5$ vs. K: $254 \text{ U/l} \pm 32,7$ vs. P $259 \text{ U/l} \pm 32,8$) als auch im linken Ventrikel (R: $442 \text{ U/l} \pm 47,4$ vs. M: $494 \text{ U/l} \pm 68,1$ vs. MR: $634 \text{ U/l} \pm 72$ vs. K: $258 \text{ U/l} \pm 30,8$ vs. P: $218 \text{ U/l} \pm 29,9$) erhoben (Tab. 3 und Abb. 11a/b). Die höchsten GSH-Px-Aktivitäten wurden sowohl im rechten als auch im linken Ventrikel nach kombinierter Behandlung mit MR gefunden. Für den rechten Ventrikel ergab sich eine in der Tendenz ($p < 0,1$) höhere GSH-Px-Aktivität nach Kombinationstherapie mit MR, verglichen mit der Monotherapie R und M. Für den linken Ventrikel konnte die in Gruppe MR im Vergleich zu den Gruppen R und M gesteigerte GSH-Px-Aktivität als signifikant erkannt werden.

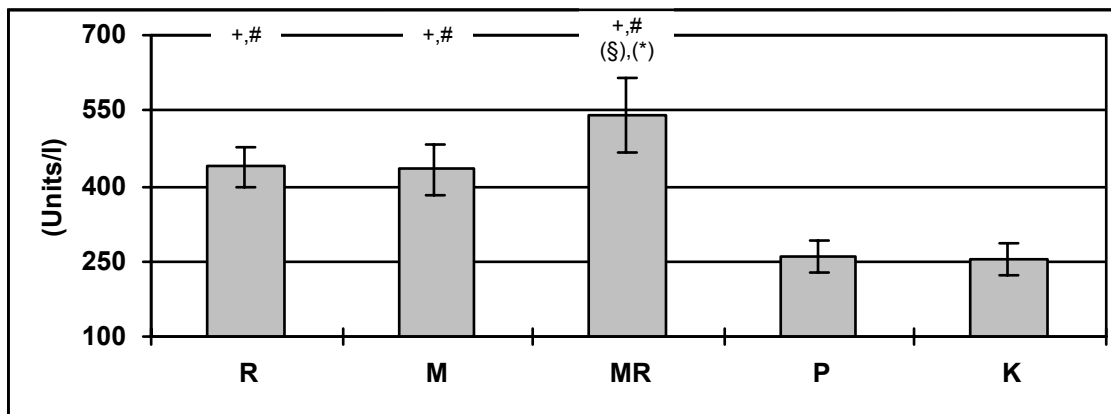


Abb. 11a: GSH-Px-Aktivität im rechten Ventrikel 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinop. Kontrolltieren (K) ; sign. $p < 0,05$: (+) > (K), (#) > (P), $p < 0,1$ ((§)) > (R), ((§)) > (M)

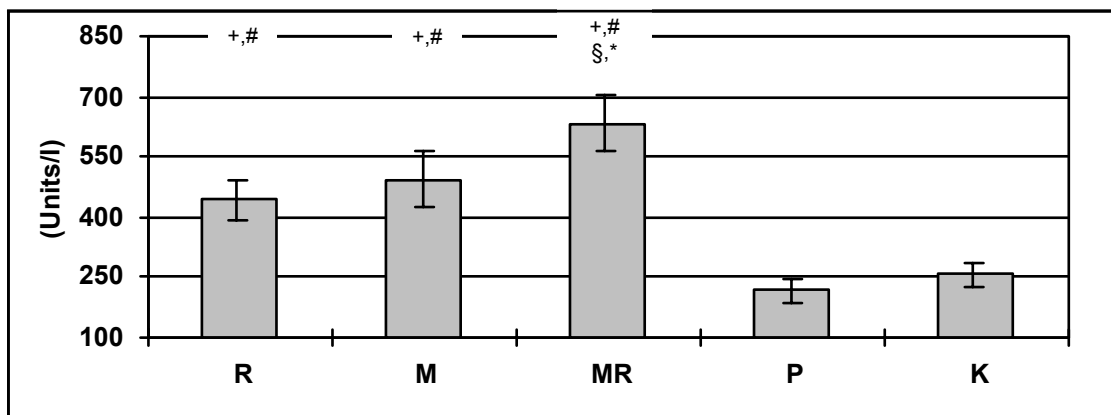


Abb. 11b: GSH-Px-Aktivität im linken Ventrikel 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinoperierten Kontrolltieren (K); sign. $p < 0,05$: (+) > (K), (#) > (P), (§) > (M), (*) > (R)

4.2.4.5 *t*-SOD unter Placebobehandlung (P)

Placebobehandelte Tiere und Kontrollen unterscheiden sich nicht in der *t*-SOD Aktivität des rechten Ventrikels ($319 \text{ U/l} \pm 20$ vs. $321 \text{ U/l} \pm 15$). Im Gegensatz dazu ist die *t*-SOD-Aktivität im linken Ventrikel nach Myokardinfarkt und Placebobehandlung gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigt ($257 \text{ U/l} \pm 13$ vs. $345 \text{ U/l} \pm 14$) (Abb. 12a, Tab. 4).

4.2.4.6 t-SOD unter Behandlung mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril (MR)

Innerhalb der Gruppen R, M, MR und K konnte kein signifikanter Unterschied in den t-SOD-Aktivitäten von rechtem und linkem Ventrikel festgestellt werden (Tab. 4)

Tab. 4: t-SOD-Aktivität (U/l) im rechten (RV) und linken Ventrikel (LV) 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinoperierten Kontrolltieren (K)

Therapie	RV	LV	Sign.
R	331 ± 14,6	328 ± 14,8	n.s.
M	355 ± 15	377 ± 14,8	n.s.
MR	351 ± 21,6	383 ± 25,4	n.s.
P	319 ± 20,6	257 ± 13,3	p ≤ 0,05
K	321 ± 14,9	345 ± 13,6	n.s.

Beim Vergleich der Therapiegruppen wurde die höchste t-SOD-Aktivität nach der Kombinationstherapie beobachtet. Dies betraf sowohl den rechten Ventrikel (R: 331 U/l ± 14,6 vs. M: 355 U/l ± 15 vs. MR: 351 U/l ± 21,6 vs. P: 319 U/l ± 20,6 vs. K: 321 U/l ± 14,9 (Tab. 4 und Abb. 12a)) als auch den linken Ventrikel (R: 328 U/l ± 14,8 vs. M: 377 U/l ± 14,8 vs. MR: 383 U/l ± 25,4 vs. P: 257 U/l ± 13,3 vs. K: 345 U/l ± 13,6 (Tab. 4 und Abb. 12c)). Die Aktivität im rechten Ventrikel von Gruppe MR war signifikant höher als in der Placebogruppe und der Kontrollgruppe. Zusätzlich war auch die t-SOD-Aktivität nach Metoprolol-Monotherapie signifikant höher als in Gruppe P. Im linken Ventrikel war die t-SOD-Aktivität von Gruppe MR signifikant gegenüber den Gruppen P und K gesteigert. Zusätzlich lag die Aktivität signifikant über der Aktivität der mit Ramipril behandelten Tiere. Beide Monotherapien führten im linken Ventrikel im Vergleich zu Placebo zu signifikant höheren t-SOD-Aktivitäten, wobei Metoprolol zu einer im Vergleich zu Ramipril signifikant stärkeren Aktivitätszunahme führte.

4.2.4.7 Mn-SOD unter Placebobehandlung (P)

Placebobehandelte Tiere und Kontrollen unterscheiden sich in der MnSOD-Aktivität des rechten Ventrikels (30,0 U/l ± 1,9 vs. 31,7 U/l ± 2,1) nicht. Im linken Ventrikel war jedoch die Aktivität nach Myokardinfarkt und Placebobehandlung gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigt (26,9 U/l ± 1,7 vs. 34,9 U/l ± 2,0) (Tab. 5 und Abb. 12f).

4.2.4.8 Mn-SOD unter Behandlung mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril (MR)

Nach Vergleich von rechtem und linkem Ventrikel zeigte die MnSOD ein der CuZnSOD vergleichbares Profil (Tab. 5). Während sich rechter und linker Ventrikel nach Ramipril-, Metoprolol- und Kombinationstherapie sowie in der Kontrollgruppe hinsichtlich der MnSOD nicht unterschieden, konnte für die Placebogruppe eine Tendenz zum Aktivitätsverlust ausgewiesen werden.

Tab. 5: MnSOD-Aktivität (U/l) im rechten (RV) und linken Ventrikel (LV) 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril-Kombination (MR) und Placebo im Vergleich zu scheinoperierten Kontrollen (K)

Therapie	RV	LV	Sign.
R	31,23 ± 1,5	31,67 ± 1,3	n.s.
M	31,23 ± 1,1	33,07 ± 1,5	n.s.
MR	34,17 ± 2,2	34,15 ± 2,8	n.s.
P	30,0 ± 1,9	26,87 ± 1,7	p ≤ 0,1
K	31,67 ± 2,1	34,92 ± 2,0	n.s.

Im rechten Ventrikel (R: 31,23 U/l ± 1,5 vs. M: 31,23 U/l ± 1,1 vs. MR: 34,17 U/l ± 2,2 vs. P: 30,0 U/l ± 1,9 vs. K: 31,7 U/l ± 2,1) konnte nur für die Kombinationstherapie MR eine Tendenz ($p \leq 0,1$) zur Aktivitätszunahme von MnSOD gegenüber Placebo ausgewiesen werden. Deutlich ausgeprägter waren die Veränderungen in der MnSOD-Aktivität im linken Ventrikel (R: 31,7 U/l ± 1,3 vs. M: 33,1 U/l ± 1,5 vs. MR: 34,15 U/l ± 2,8 vs. P: 26,87 U/l ± 1,7 vs. K: 34,9 U/l ± 2,0). Alle drei Therapieformen steigerten im Vergleich zu placebobehandelten Tieren die MnSOD-Aktivität im linken Ventrikel. Unterschiede zwischen den Therapiegruppen wurden im Hinblick auf die MnSOD nicht gefunden.

4.2.4.9 CuZnSOD unter Placebo (P) und Behandlung mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Ramipril/ Metoprolol (MR)

Die Aktivität im rechten Ventrikel von Gruppe MR war dabei höher als die Aktivitäten der Placebogruppe, der Kontrollgruppe oder der Gruppe R. Signifikante Unterschiede zwischen Gruppe R, M und P wurden nicht beobachtet. Stärkere Veränderungen in Abhängigkeit von der Therapie zeigte die CuZnSOD im linken Ventrikel. Alle drei Therapieformen steigerten im Vergleich zu placebobehandelten Tieren die CuZnSOD-Aktivität im linken Ventrikel. Kein Unterschied wurde zwischen Gruppe MR und M gefunden. In beiden Gruppen lag die

CuZnSOD-Aktivität jedoch über der der Gruppe R. In der MR-Gruppe war die Aktivität auch signifikant gegenüber den Kontrollen gesteigert (Abb. 12b/d).

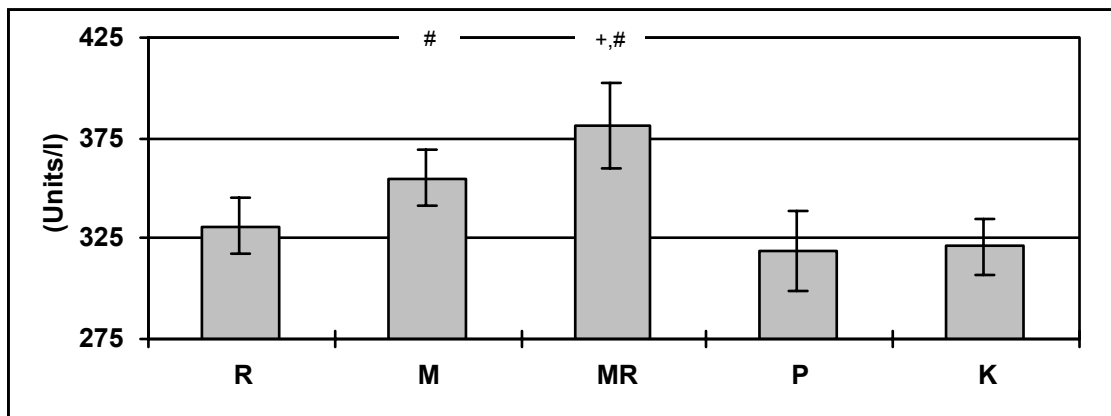


Abb. 12a: t-SOD-Aktivität im rechten Ventrikel 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinoperierten Kontrolltieren (K); sign. $p < 0,05$: (+) > (K), (#) > (P)

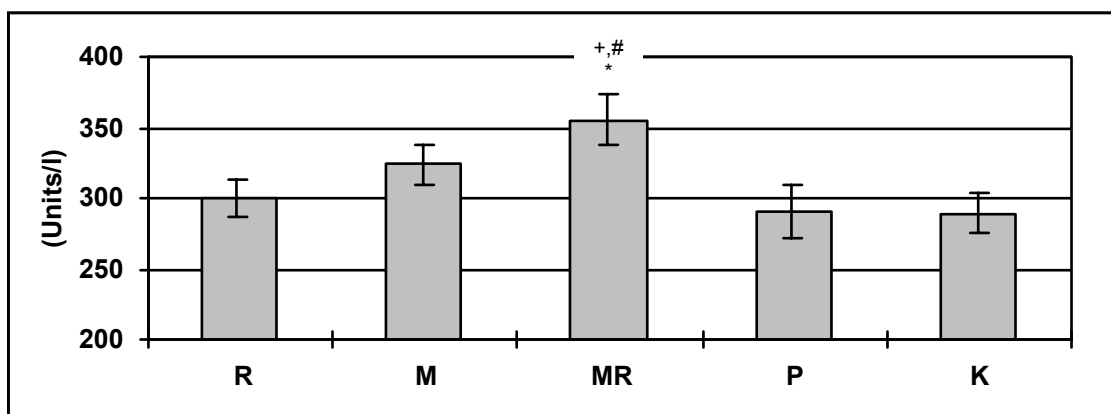


Abb. 12b: CuZnSOD-Aktivität im rechten Ventrikel 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinoperierten Kontrolltieren (K); sign. $p < 0,05$: (+) > (K), (#) > (P), (*) > (R)

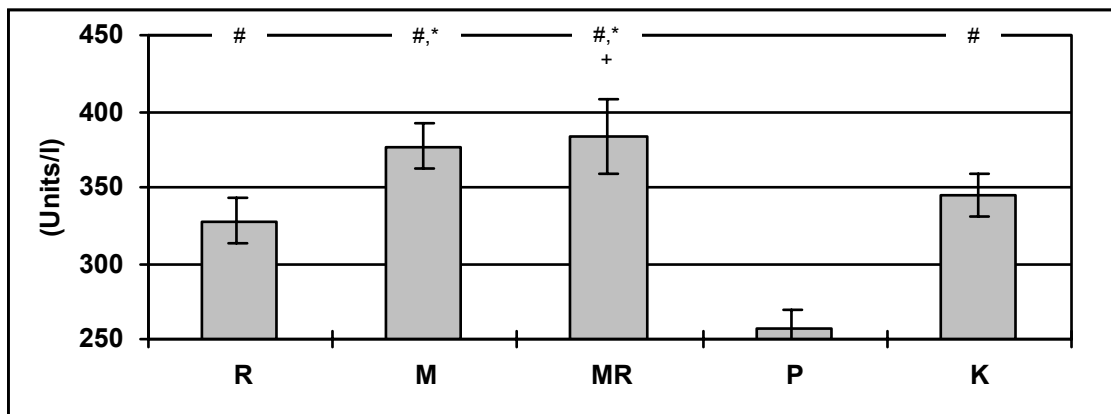


Abb. 12c: t-SOD-Aktivität im linken Ventrikel 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinooperierten Kontrolltieren (K); sign. $p < 0,05$: (+) > (K), (#) > (P), (*) > (R)

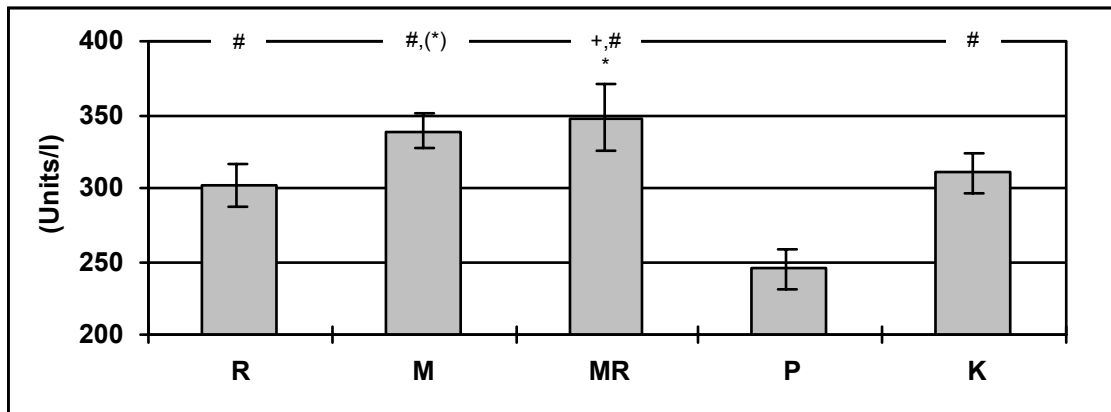


Abb. 12d: CnZnSOD-Aktivität im linken Ventrikel 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinooperierten Kontrolltieren (K); sign. $p < 0,05$: (+) > (K), (#) > (P), $p < 0,1$ ((*)) > (R)

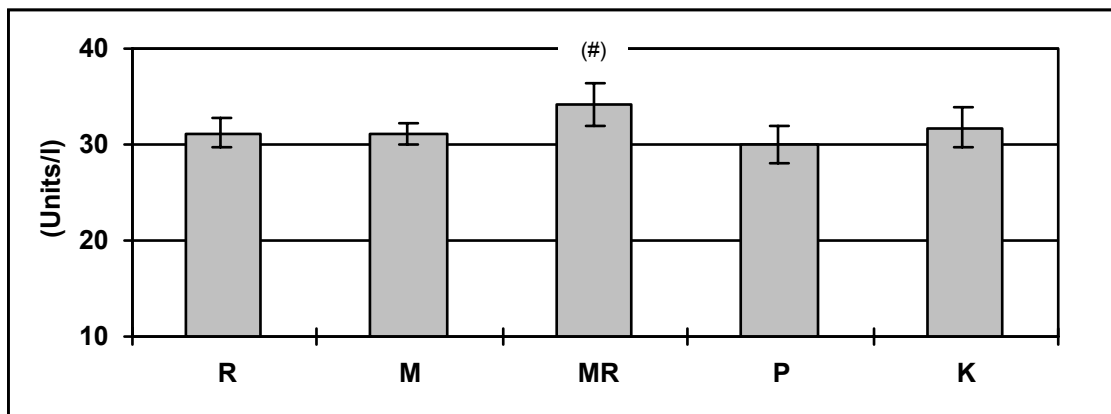


Abb. 12e: MnSOD-Aktivität im rechten Ventrikel 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinooperierten Kontrolltieren (K); sign. $p < 0,1$: ((#)) > (P)

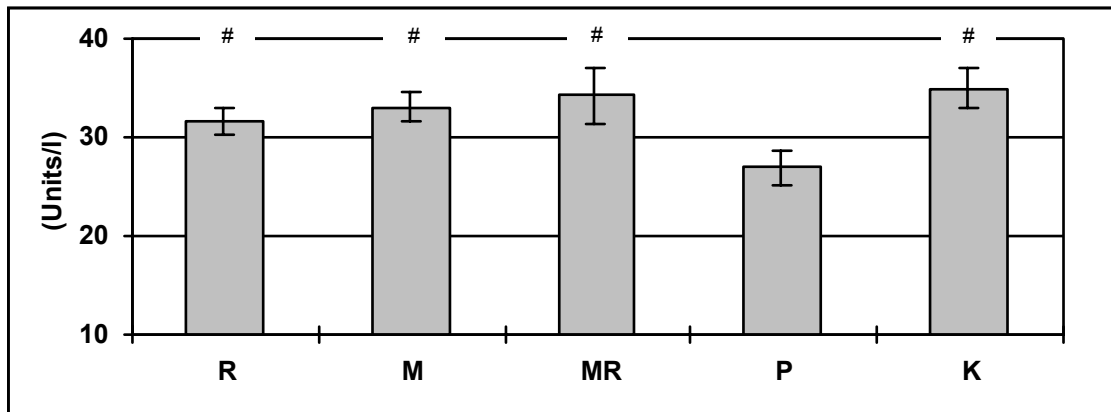


Abb. 12f: MnSOD- Aktivität im linken Ventrikel 6 Wochen nach Myokardinfarkt unter Therapie mit Ramipril (R), Metoprolol (M), Metoprolol/Ramipril-Kombination (MR) und Placebo (P) im Vergleich zu scheinooperierten Kontrolltieren (K); sign. $p < 0,05$: (#) > (P)

5 Diskussion

5.1 Parameterkritik

Die zur Charakterisierung des Sauerstoffradikal-Stoffwechsels in der akuten Phase (Studie 1) und chronischen Phase (Studie 2) nach Myokardinfarkt genutzten Parameter entsprechen dem üblichen Instrumentarium für derartige Untersuchungen. Gutteridge (68), Ji (69) und Armstrong und Browne (70) haben diese Parameter unter Berücksichtigung der analytischen Verfahren, Spezifität der Methoden und ihrer Einschränkungen kritisch diskutiert und als geeignet zur Charakterisierung des Sauerstoffradikal-Stoffwechsels bezeichnet. Die von uns ermittelten Daten zur Präzision der genutzten Methoden bestätigen dies. Ein direkter Einfluss der in Studie 2 eingesetzten Medikamente auf die Testsysteme wurde in Vorversuchen ausgeschlossen. Auch in der Literatur existieren keine Hinweise auf Interferenzen von Ramipril und Metoprolol mit den Testsystemen.

5.1.1 Lipidperoxide (LPO)

Gesteigerte Lipidperoxidation ist ein typisches Merkmal bei oxidativem Stress. Von Gutteridge (68) wurde eine Auswahl von Methoden zur Quantifizierung der Lipidperoxidation angegeben. Das Ausmaß der Lipidperoxidation lässt sich anhand a) des Verlustes an polyungesättigten Fettsäuren, b) der Zunahme von Dien-Konjugation und c) von Konzentrationserhöhungen an Lipidperoxiden, Malondialdehyd, 4-Hydroxynonenal und nicht enzymatisch gebildeter Prostaglandin-Analoga bestimmen. Darüber hinaus kann die Lipidperoxidation auch über die Bildung von Ethan und Pentan in der Atemluft gemessen werden. Die von uns genutzte Methode zur Bestimmung der Lipidperoxidkonzentration nach Ohkawa et al. (36) gehört zu der am häufigsten eingesetzten Methode zur Quantifizierung der Lipidperoxidation in Geweben. Das Reaktionsprinzip beruht auf der Reaktion von Lipidperoxiden bzw. deren Abbauprodukt Malondialdehyd mit Thiobarbitursäure in saurer Lösung unter Bildung eines roten Reaktionsproduktes, das photometrisch bei 532 nm bzw. fluorimetrisch bei 515/553 nm erfasst werden kann. Durch die fluorimetrische Bestimmung kann die Sensitivität um den Faktor 10 gesteigert werden. Neben Lipidperoxiden und deren Metabolisierungsprodukt Malondialdehyd, die nicht enzymatisch im Rahmen der Lipidperoxidation im Gewebe gebildet werden, reagieren auch enzymatisch gebildete Endoperoxide des Prostaglandinstoffwechsels (71) sowie bei der Thromboxansynthese gebildetes Malondialdehyd mit Thiobarbitursäure. Es überrascht deshalb nicht, dass bei Vergleich von plättchenreichem und plättchenärmerem Plasma in Ersterem

höhere LPO-Konzentrationen gemessen wurden (72). Darüber hinaus sind auch Glukose, Bilirubin und dessen Metabolisierungsprodukte Störfaktoren, die den LPO-Wert, gemessen nach Ohkawa et al. (36), ex vivo beeinflussen können. Janero (73) hat diese Störgrößen im Hinblick auf ihren Einfluss auf den LPO-Wert zusammenfassend diskutiert. Um den Einfluss derartiger Störgrößen auf den LPO-Wert zu minimieren, wurde das in unseren Untersuchungen eingesetzte Gewebe möglichst blutfrei gespült. Auch Störgrößen, wie inadäquate Lagerung der Proben (u.a. Sauerstoffgegenwart, ungenügend niedrige Lagertemperatur, mehrfaches Frieren/Tauen) können die Lipidperoxidation ex vivo steigern und damit zu falschen Schlüssen hinsichtlich der in vivo-Konzentration führen. Wir haben deshalb auf ein streng standardisiertes Regime von Probenentnahme, -aufbereitung und -lagerung zur Vermeidung der Störgrößen geachtet. Dieses Regime schloss eine schnelle Probennahme und Portionierung der Proben nach der Tötung der Tiere sowie Lagerung der Proben in flüssigem Stickstoff bis zur Analyse ein. Bei einem derartigen Vorgehen konnte, wie in Vorversuchen ermittelt wurde, eine akzeptable serielle und zeitabhängige Präzision erzielt werden. Liedke et al. (74) fanden in Abhängigkeit von den Homogenisierungsbedingungen bei gleichem Probenmaterial unterschiedliche LPO-Konzentrationen, als deren Ursache autokatalytische Lipidperoxidation während des Homogenisierens der Proben angesehen wurde. Nach Buege und Aust (75) kommt es auch während der Inkubation von Gewebehomogenat mit Thiobarbitursäure im sauren Milieu zu einer durch Hämoproteine und Übergangsmetalle katalysierten Autooxidation von Lipiden, die damit ebenfalls den LPO-Wert ex vivo erhöhen kann. Um dies zu verhindern, schlugen sie die Zugabe von synthetischen Antioxidantien wie BHA während der Inkubation vor. Schimke (76) hat sowohl den Homogenisierungsschritt als auch den Inkubationsschritt in Gegenwart von BHA durchgeführt. Dabei zeigte sich ein um 50 % niedrigerer LPO-Wert, wenn die Homogenisierung in Gegenwart von BHA durchgeführt wurde. Bei Zugabe von BHA während der Inkubation unterschied sich der LPO-Wert nicht von dem in Abwesenheit von BHA gemessenen. Als Konsequenz wurde das Gewebe in Gegenwart von BHA homogenisiert.

5.1.2 Superoxiddismutase (SOD) und Glutathionperoxidase (GSHPx)

Im Hinblick auf die zellulären enzymatischen Antioxidantien SOD und GSHPx hat Ji (69) am Beispiel physischer Belastung Aktivitätszustände dieser Enzyme zusammenfassend dargestellt, die als Hinweis auf gesteigerten oxidativen Stress gewertet werden können. In Abhängigkeit von akutem oder chronischem physischen Stress bzw. in Abhängigkeit von der Intensität der

physischen Belastung wurden kompensatorische Aktivitätszunahme oder Enzyminhibition beobachtet.

5.1.3 Superoxiddismutase (SOD)

Zur Bestimmung der SOD-Aktivität werden fast ausnahmslos Methoden verwendet, in denen eine superoxid-generierende Reaktion mit einer superoxid-abhängigen Indikatorreaktion gekoppelt ist. Im Falle der Autooxidation von Pyrogallol oder Katecholaminen (77) sind superoxid-generierende Reaktion und Indikatorreaktion identisch. Die SOD-Aktivität eines Probenmaterials wird dann über die prozentuale Hemmung der Indikatorreaktion ermittelt. Aufgrund der vielfältigen Variationsmöglichkeiten in den SOD-Aktivitätstesten sind die Angaben über SOD-Aktivitäten in der Regel nicht vergleichbar. Neben der SOD-abhängigen Hemmung der Indikatorreaktion müssen weitere Oxidoreduktasevorgänge im Probenmaterial, die mit der SOD konkurrieren können, ausgeschlossen werden. So können Metallkomplexe von Aminosäuren und Oligopeptiden, Metallchelate (EDTA-Komplexe) oder Flavinenzyme SOD-Aktivität vortäuschen (77). Auch Radikalfänger, z.B. Diphenole, thiolgruppenhaltige Substanzen und Ascorbat können Einfluss auf den SOD-Test nehmen (78). Unter den Superoxid generierenden Reaktionen hat das Xanthin/Xanthinoxidase-System die weiteste Verbreitung gefunden. Die häufigst genutzte Indikatorreaktion ist die Reduktion von NBT bzw. INT. Die Kopplung beider Reaktionen zu einem SOD-Aktivitätstest basiert auf Beauchamp und Fridovich (38). Der Vorteil dieser Methode gegenüber einer Methode, die Cytochrom-C-Reduktion als Indikatorreaktion nutzt, besteht in der Möglichkeit, durch Zugabe von Cyanid zwischen CuZnSOD (cyanidhemmbar) und MnSOD zu differenzieren. Die Xanthin/Xanthinoxidase-abhängige Superoxidbildung, gekoppelt an die INT Reduktion, ist als Test zur SOD-Aktivitätsbestimmung kommerziell verfügbar und wurde in dieser Arbeit genutzt. Nach früheren Untersuchungen (79) ist eine Linearität zwischen der SOD-Aktivität und Hemmung der INT-Reduktion nur im Bereich von 20 bis 60 % Hemmung gegeben. Wir haben das Probenmaterial deshalb so verdünnt, dass im Bereich von 50 % Hemmung gearbeitet werden konnte. Nach Oberley und Spitz (80) ist bekannt, dass Diethylettriamine-pentaacetic acid (DETAPAC) an Stelle von EDTA, wie im kommerziellen Test vorhanden, die Sensitivität des SOD-Testes erhöht. Dies sollte jedoch nur dann von Bedeutung sein, wenn Gewebe mit sehr geringer SOD-Aktivität (Tumorgewebe) untersucht werden. Im Gegensatz zu Tumorgeweben besitzt Rattenherzgewebe eine hohe SOD-Aktivität. Die optimale Cyanidkonzentration zur Differenzierung zwischen CuZnSOD und MnSOD liegt im Bereich von 1-2 mmol/l. In der

Literatur (81) angegebene höhere Cyanidkonzentrationen führten in unseren Untersuchungen zur Hemmung der Superoxid-Bildung im Xanthin/Xanthinoxidase-System. Ausgehend vom MnSOD-Anteil von 10 - 20 % der Gesamtaktivität ist eine optimale Bestimmung der MnSOD (~ 50 % Hemmung der Indikatorreaktion) nur möglich, wenn das Probenmaterial im Vergleich zur Bestimmung der Gesamtaktivität um den Faktor 5 - 10 konzentrierter eingesetzt wird.

5.1.4 Glutathionperoxidase (GSH-Px)

Auch zur Bestimmung der GSH-Px-Aktivität existieren verschiedene Methoden. So wurde die GSH-Px-Aktivität über den Verbrauch des Substrates H_2O_2 oder des Co-Substrates GSH quantifiziert. Heute wird nahezu ausschließlich eine auf Paglia und Valentine (40) beruhende Methode genutzt. In diesem gekoppelten optischen Test wird das in der Peroxidasereaktion gebildete oxidierte Glutathion (GSSG) mittels eines Überschusses an NADPH und Glutathionreduktase reduziert. Der Verbrauch von NADPH wird photometrisch erfasst. Der Test ist gut standardisiert und kommerziell verfügbar. Als Substrat wird Cumolhydroperoxid verwendet. Der Umsatz entspricht damit der Gesamtaktivität aller Glutathionperoxidasen (selenabhängige und selenunabhängige GSH-Px). Wird an Stelle von Cumolhydroperoxid H_2O_2 als Substrat eingesetzt, wird nur die selenabhängige GSH-Px-Aktivität gemessen (81). Da jedoch im Herz im Gegensatz beispielsweise zur Leber nahezu 100 % selenabhängige GSH-Px vorkommt, schien in der vorliegenden Arbeit eine Differenzierung nicht notwendig.

5.2 Ergebnisbetrachtung

Die Induktion von oxidativem Stress als Folge der für die Herzinsuffizienz typischen biochemischen Initialreaktionen, die hypoxisch-ischämischer, rheumatisch-entzündlicher, pharmakologisch-toxischer, endokriner und Hypertrophie-induzierender Art sind, ist gut bekannt. Bei Herzinsuffizienz verschiedener Genese ließen sich in klinischen Studien - z.T. in Abhängigkeit zum Schweregrad - als Zeichen von oxidativem Stress gesteigerte Lipidperoxidation in der Respirationsluft (gesteigerte Ethan- und Pentan-Konzentration) und im Blut (erhöhte Lipidperoxid- und Isoprostankonzentration) nachweisen. Auch eine gesteigerte Thioloxydation (verminderte Thiolgruppenkonzentration) im Blut wurde beobachtet (13 - 18) und als Kompensationsmechanismus zum Schutz des überlebenden Myokards vor gesteigertem oxidativen Stress angesehen. Erst im weiteren Verlauf bzw. bei exzessivem Anstieg von oxidativem Stress tritt ein Aktivitätsverlust der antioxidativen Enzyme auf. Tierexperimentell wurde gezeigt, dass bei Alkohol- (82, 83), Katecholamin- (84, 85), Schilddrüsenhormon- (86)

und Diabetes-induzierter Kardiomyopathie (87), bei durch Antibiotika vom Anthracyclin- (88, 89) und Nitrofurantyp (90) induzierter Kardiomyopathie und bei der genetisch bedingten Kardiomyopathie des Syrischen Hamsters (91) sauerstoffradikal-induzierte Schädigungsreaktionen (z.B. Lipidperoxidation) ablaufen. Manchmal ist die Zunahme der Lipidperoxidation im Herz bei Kardiomyopathie mit einer verminderten enzymatischen antioxidativen Kapazität verbunden (89, 92). Andererseits wurden im Verlauf der Kardiomyopathie-Genese neben der Aktivierung der Lipidperoxidation auch Aktivitätssteigerungen im enzymatischen antioxidativen System beschrieben oder es wurden nur Aktivitätszunahmen im enzymatischen antioxidativen System gefunden (93).

Basierend auf diesen klinischen und tierexperimentellen Befunden zur Assoziation von oxidativem Stress und Herzinsuffizienz, vor allem aber ausgehend von der in den klinischen Studien beobachteten Korrelation zwischen dem Ausmaß von oxidativem Stress und dem Schweregrad der Herzinsuffizienz haben wir die Hypothese formuliert, dass die bei einer Herzinsuffizienz als protektiv anerkannten therapeutischen Prinzipien der ACE-Inhibition und β -Blockade ihre Wirkung u.a. auch über eine Reduktion von oxidativem Stress im Myokard erzielen. Von besonderem Interesse erschien uns dabei, zu prüfen, ob eine kombinierte ACE-Hemmung und β -Blockade, die sich in klinischen Untersuchungen der Monotherapie als überlegen erwiesen hat (34, 35, 56, 60, 94, 95), einen stärkeren Effekt als die Monotherapie auf den myokardialen Stoffwechsel der Sauerstoffradikale hat und ob dies mit der Myokardfunktion korreliert.

5.2.1 Akuter Myokardinfarkt und oxidativer Stress

Unsere tierexperimentellen Untersuchungen dokumentieren, dass die für die Genese der Herzinsuffizienz typischen biochemischen Initialreaktionen oxidativen Stress induzieren. Unter vergleichbaren Bedingungen wurde durch Serumuntersuchungen auch für den Menschen eine Zunahme von oxidativem Stress gezeigt. So wurden bei Patienten mit Myokarditis im Blut erhöhte Konzentrationen an Lipidperoxiden bei gleichzeitigem Verlust an GSH-Px- und SOD-Aktivität gefunden (96, 97). Unter Nutzung von Myokardbiopsien konnte bei Myokarditis direkt im Herzmuskelgewebe eine gesteigerte Lipidperoxidkonzentration nachgewiesen werden (98). Die Induktion von oxidativem Stress durch Anthracycline und Alkohol ist ebenfalls in klinischen Studien belegt (99). Unter den endokrinologischen Ursachen für eine Herzinsuffizienz ist besonders für Patienten mit Diabetes mellitus gesteigerter oxidativer Stress dokumentiert (100).

Vor allem bei einem akuten Myokardinfarkt - der wichtigsten Ursache einer Herzinsuffizienz - wurde in klinischen Studien gesteigerter oxidativer Stress beobachtet (101, 102).

Nach unserer Überlegung sollte im Hinblick auf die Myokardinfarkt-induzierte Herzinsuffizienz an erster Stelle gesteigerter oxidativer Stress im überlebenden nicht nekrotischen Myokard von Bedeutung sein.

Tatsächlich beobachteten wir in dem von uns genutzten Ligaturinfarktmodell der Ratte im nicht infarzierten Myokard deutliche Zeichen eines gesteigerten oxidativen Stresses in der akuten Phase nach Infarkt. So fanden wir im Vergleich zu den Kontrolltieren 30 - 36 h nach Infarkt im nicht infarzierten Gewebe sowohl des rechten als auch linken Ventrikels signifikant höhere Konzentrationen an Lipidperoxiden. Auch Meerson et al. (103) beschrieben nach Infarkt signifikant gesteigerte Lipidperoxidkonzentrationen im nicht infarzierten Myokard. Da bekannt ist, dass die antioxidativen Enzyme bei exzessivem oxidativen Stress inhibiert werden können (104) interpretieren Meerson et al. (103) den Verlust an GSH-Px und SOD-Aktivität im nicht infarzierten Myokard ihres Ligaturinfarktmodells als ein weiteres Zeichen für die Zunahme von oxidativem Stress im diesem für die Herzinsuffizienzentwicklung entscheidenden Myokardgebiet. In der Tendenz vergleichbare Ergebnisse zeigen auch unsere Untersuchungen. So lagen bei den Tieren mit Myokardinfarkt die mittleren GSH-Px- und SOD-Aktivitäten im nicht infarzierten Gewebe sowohl des rechten wie auch des linken Ventrikels unter den Aktivitäten der Kontrolltiere, wobei der Aktivitätsverlust im linken Ventrikel deutlicher ausgeprägt war. Die errechneten Signifikanzniveaus von $p \leq 0,1$ zeigen für die t-SOD und CuZnSOD in der Tendenz und für die MnSOD mit $p \leq 0,05$ einen signifikanten Aktivitätsverlust im linksventrikulären nicht infarzierten Gewebe der Infarktgruppe verglichen mit dem Myokard der Kontrolltiere.

Der im Vergleich zur GSH-Px deutlichere Aktivitätsverlust der SOD ist bereits mehrfach beobachtet worden (22, 105) und kann mit einer bevorzugten Inhibition vor allem der CuZnSOD unter exzessivem oxidativem Stress erklärt werden (106). Darüber hinaus ist kürzlich im Rattenmodell gezeigt worden, dass das nicht nekrotische Myokard primär mit einer Erhöhung insbesondere der GSH-Px-Aktivität auf gesteigerten oxidativen Stress antworten kann (107). Unterschiedliche Schweregrade von Infarkten (u.a. Infarktgröße) und Untersuchungszeitpunkte im Verlauf des Myokardinfarkt haben wesentlichen Einfluss auf das Muster von Markern, die laborchemisch zur Charakterisierung von oxidativem Stress im nicht infarzierten Gewebe nach

Myokardinfarkt eingesetzt werden und erklären z.T. widersprüchliche Ergebnisse. Dies könnte auch eine Erklärung dafür sein, dass Torok et al (108) in ihren Untersuchungen am Hundeherz nach Myokardinfarkt Hinweise auf oxidativen Stress nur in der „borderline zone“, nicht jedoch im nicht infarzierten Gewebe fanden.

Die von uns beobachtete Zunahme von oxidativem Stress im Rattenherz nach Ligaturinfarkt kann als eine Ursache für die nachfolgende Entwicklung einer Herzinsuffizienz angesehen werden. Vor allem tierexperimentelle Studien haben gezeigt, dass die Induktion von oxidativem Stress im Herz - wenn ihm nicht protektiv begegnet wird - eine Kaskade von Schädigungsreaktionen auslöst, die für die Myokardfunktion essentielle Stoffwechselwege in einer für die Herzinsuffizienz typischen Weise beeinflussen.

In verschiedenen Modellen (Kaninchenseptum, isoliertes Rattenherz, Papillarmuskel) (110, 111) wurde gezeigt, dass gesteigerte Sauerstoffradikal-Bildung Reaktionen induziert, die zu funktionellen Einschränkungen und strukturellen Änderungen im Myokard führen. Wie zusammenfassend dargestellt wurde, sind dabei eine spezifische oxidative Modulation membranständiger Enzyme, veränderte Membranstrukturen oder sogar vollständige Membrandestruktion beobachtet worden (30). Sauerstoffradikal-induzierte Reaktionen beeinflussen auch die Regulation der intrazellulären Ca-Konzentration durch Störung der Ca-Aufnahme ins sarkoplasmatische Retikulum (21, 112). Sauerstoffradikale beeinflussen weiter den Ca/Na-Austausch, vermindern die Aktivität von Na/K-ATPase, sarkolemmaler Ca-ATPase und myofibrillärer ATPase und führen zur Hemmung von oxydativer Phosphorylierung und Glykolyse. Thioloxydation und Lipidperoxydation führen nach vorübergehender Sensitivitätszunahme zum Funktionsverlust des sarkolemmalen β -Rezeptor-Adenylcyclase-Systems (113). Sauerstoffradikale gelten darüber hinaus als Induktoren bzw. Mediatoren von Myocytenhypertrophie (114). Da Sauerstoffradikale auch Transkriptions- und Translationsprozesse beeinflussen können (115), kann nicht ausgeschlossen werden, dass über diesen Weg oxidativer Stress auch zur hypertrophie-assoziierten Re-Expression fetaler Proteingene beiträgt, beispielsweise der fetalen Isoformen von α -Aktin, Tropomyosin, β -Myosin und Creatinkinase (116). Dass Lipidperoxydation eine wesentliche Komponente bei der Nekrotisierung darstellt, ist heute allgemein anerkannt. Die Freisetzung lysosomaler Enzyme unter oxidativem Stress könnte dabei bedeutsam sein. Wie von Singal (117) zusammengefasst wurde, kann auch die für die Herzinsuffizienz als typisch ausgewiesene Apoptose durch oxidativen Stress ausgelöst werden.

Durch Antioxidantien wie Katalase, SOD, Vitamin E und Trolox kann die Apoptose verhindert bzw. minimiert werden. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass neben der Apoptosestimulation in Kardiomyozyten Sauerstoffradikale die Fibroblastenproliferation stimulieren (118, 119).

Die Ursachen für oxidativen Stress im überlebenden Gewebe nach Myokardinfarkt sind noch immer nicht zweifelsfrei bekannt. Die Aktivierung verschiedener Sauerstoffradikalquellen im Verlauf oszillierender Ischämie/Reperfusionszyklen, welche von der „borderline zone“ ins überlebende Myokard ausstrahlen, wird diskutiert. Wie mehrfach zusammenfassend dargestellt wurde (21, 23, 30), gelten mitochondriale Atmungskette, Xanthinoxidase, Enzyme der Prostaglandinbiosynthese, neutrophile NADPH-Oxidase und Enzyme des Katecholaminstoffwechsels als potentielle Sauerstoffradikalbildner, die durch myokardiale Ischämie aktiviert werden. Bereits frühzeitig wurde auf eine über das physiologische Niveau hinausgehende mitochondriale Sauerstoffradikalbildung bei Ischämie/Reperfusion hingewiesen (120). Neuere Untersuchungen haben den Verdacht einer mitochondrialen Ursache für oxidativen Stress im Herz erhärtet (121). Die mitochondriale Sauerstoffradikalbildung könnte dabei durch eine in Folge der katecholaminergen Hyperstimulation bei Myokardinfarkt zunehmenden Blockade der Atmungskette begünstigt werden (122). Auf weitere Mechanismen der Sauerstoffradikalbildung unter katecholaminergen Hyperstimulation wurde bereits verwiesen.

Während die Xanthinoxidase als Sauerstoffradikalquelle im menschlichen Herzen bisher nicht gesichert wurde, muss dieses Enzym für das Rattenherz bei Ischämie/Reperfusion als potente Sauerstoffradikalquelle angesehen werden. Bereits sehr frühzeitig sind durch Ischämie aktivierte Leukozyten als Sauerstoffradikalquelle im Herz erkannt worden (123).

5.2.2 Oxidativer Stress und Herzinsuffizienz

Singal und Kirshenbaum (124) haben 1990 die Hypothese formuliert, dass „maintained or improved function during compensated heart hypertrophy may be supported by an increased antioxidant capacity, and a relative deficit in this antioxidant reserve may contribute in the development of the decompensated state“. Diese Hypothese basierte u.a. auf Untersuchungen (125), in denen gezeigt wurde, dass die Herzhypertrophieentwicklung im Rattenmodell primär mit einem Anstieg der Aktivität antioxidativer Enzyme bei gleichzeitig verminderter Lipidperoxidation im Myokard verbunden ist. Als Folge der Zunahme der myokardialen antioxidativen Kapazität wurde bei einer zusätzlichen Belastung des Herzens mit oxidativem Stress verglichen mit den nicht hypertrophierten Kontrollherzen eine geringere Beeinträchtigung

der Myokardfunktion ausgewiesen. Wurden durch Training die myokardiale antioxidative Kapazität gesteigert, entwickelte sich nach Adriamycin-Gabe eine geringere Herzinsuffizienz (126). Nachfolgend wurde diese Hypothese durch eine Reihe weiterer Untersuchungen untermauert. So wurde nach chronischer Druckbelastung des Herzens gezeigt, dass der Zunahme der antioxidativen Kapazität im Stadium der kompensierten Hypertrophie eine Verminderung der antioxidativen Kapazität mit steigender Lipidperoxidation und typischen funktionellen Zeichen der dekompenzierten Herzinsuffizienz folgt (45). Als Konsequenz wurde vorgeschlagen, nach Induktion der Herzinsuffizienz den Anstieg der antioxidativen Kapazität im kompensierten Stadium durch Gabe von Antioxidantien zu begünstigen bzw. den Zeitraum hoher antioxidativer Kapazität im Herz auszuweiten und so den Übergang zur dekompenzierten Herzinsuffizienz hinauszuzögern.

5.2.3 Myokardinfarkt-induzierte Herzinsuffizienz

Die Mortalität nach Myokardinfarkt wird durch frühzeitige Thrombolysetherapie und Katheter-revaskularisierung entscheidend gesenkt. Damit tritt die chronische Herzinsuffizienz als Folge des überstandenen Myokardinfarktes in den Vordergrund. Wie bereits in der Einleitung ausgeführt, reagiert das nicht infarzierte Gewebe nach Myokardinfarkt zur Kompensation des Verlustes an funktionsfähigem Myokard mit Dilatation und Myozytenhypertrophie (frühes Remodeling). Endresultate sind ein vergrößerter Ventrikel, erhöhter linksventrikulärer end-diastolischer Druck und gesteigerte Wandspannung (La Place'sches Gesetz). Die daraus folgende hämodynamische Belastung führt zu zunehmender Myokardhypertrophie (spätes Remodeling), die über Reduzierung der Wandspannung eine zeitlich begrenzte Anpassung des Herzens an die gesteigerte hämodynamische Belastung ermöglicht. Letztlich führen jedoch die Vergrößerung des Kammervolumens und die hochgradige exzentrische Dilatation dazu, dass das Herz „dekompensiert“, es wird „insuffizient“ mit der Konsequenz des Pumpversagens.

5.2.4 Tiermodell der myokardinfarktinduzierten Herzinsuffizienz

Als Modell zur Darstellung der Prozesse infarktinduzierter Herzinsuffizienz und möglicher therapeutischer Einflussmöglichkeiten wurde schon frühzeitig der auch in dieser Arbeit genutzte „Ligaturinfarkt“ der Ratte eingesetzt (127). Hügel et al (129) weisen dieses Modell als klinisch relevant für die myokardinfarktinduzierte Herzinsuffizienz aus, da es vor allem gut zur Untersuchung pharmakologischer Präventions- und Protektionsmaßnahmen geeignet ist.

Nach erfolgreichem Gefäßverschluss der linken Koronararterie (nachweisbar an regionaler Zyanose des Myokards in Kombination mit dem Auftreten charakteristischer ST-Hebungen im Elektrokardiogramm) verstarben in unserer Untersuchung 44 % der Tiere innerhalb von 24 h. Anschließend verstarben bis zum Versuche von 6 Wochen weitere 7 - 12 %, ohne dass ein Unterschied zwischen den Tieren mit Medikamenten- bzw. Placebobehandlung sichtbar wurde. Vergleichbare Sterblichkeitsraten wurden auch von anderen Autoren beobachtet (128, 129). Von den scheinoperierten Kontrolltieren starben im Versuchszeitraum ca. 1,5 %. Hierüber liegen keine Informationen aus anderen Studien vor. Um die Infarktgröße als Hauptdeterminante für die Ergebnisse unserer Untersuchungen auszuschließen, d.h. eine größere Homogenität der Gruppen hinsichtlich der Infarktgröße zu gewährleisten wurden nur Tiere mit einer Infarktgröße $> 20 \%$ in die statistische Evaluation aufgenommen. Ein vergleichbares Vorgehen wurde auch von Wei et al (130) gewählt.

5.2.5 Funktionelle und anatomische Charakteristika

Nach Vergleich von Kontroll- und Placebogruppe zeigte sich nach 6 Wochen in Übereinstimmung mit anderen Studien, dass der Myokardinfarkt zu keiner veränderten Körpergewichtsentwicklung der Tiere führt (128 - 130). 6 Wochen nach Myokardinfarkt waren jedoch, wie dies für das Modell zu erwarten ist und in einer Vielzahl anderer Studien schon beschrieben wurde, Herzinsuffizienz-typische Veränderungen in der Hämodynamik, der kontraktilen Funktion und der Herzgeometrie zu beobachten. Typisch ist der Anstieg des LVEDP. Die eingeschränkte Kontraktilität, die wir an Papillarmuskeln ermittelt haben, wird durch verminderte Anstiegsgeschwindigkeit $(dF/dt_{\max})/F$ und das „Äquivalent für die maximale Verkürzungsgeschwindigkeit der Sarkomere“ (v_{\max} -Äquivalent) sowie die Verlängerung von Kraftentwicklungszeit (TPF = Time to Peak Force) und Relaxationszeit (RT50) dokumentiert. Für die Repräsentativität der am Papillarmuskel gefundenen eingeschränkten Kontraktilität für das gesamte überlebende Myokard vor allem des linken Ventrikels spricht, dass der Papillarmuskel parallel zu den Ventrikeln hypertrophiert (131) und wir keine Zeichen für Nekrose im Papillarmuskel fanden.

Für die gestörte Kontraktilität im überlebenden Myokard nach Infarkt wird von Wagner et al (132) das „langsame“, mit verminderter ATPase-Aktivität ausgestattete Myosin V_3 und eine gestörte myokardiale Ca^{2+} -Homöostase verantwortlich gemacht. So wurde die Zunahme von

Myosin V₃ im Rattenmodell der myokardinfarktinduzierten Herzinsuffizienz und ein veränderter Ca²⁺-Gradient (133) im hypertrophierten Myokard nach Infarkt beschrieben.

In unserem Modell konnten wir 6 Wochen nach Myokardinfarkt für beide Ventrikel eine deutliche Hypertrophie nachweisen. Für den rechten Ventrikel wird dies durch die Zunahmen von Gesamtventrikelgewicht, Gewicht des rechten Ventrikels sowie Koeffizient Gewicht des rechten Ventrikels zu Körpergewicht belegt. Im Kapitel 4.2.1 haben wir gezeigt, dass zur Charakterisierung einer Hypertrophie im linken Ventrikel die Parameter Gewicht des linken Ventrikels und Gewicht des linken Ventrikels/Körpergewicht bei einer Infarktfläche > 60 % ungeeignet sind. Die Ursache dafür liegt in der Ungenauigkeit der Parameter, die zur Hypertrophiecharakterisierung eingesetzt wurden, wodurch die Hypertrophie im linken Ventrikel bei abnehmendem Anteil an überlebendem und damit hypertrophierbarem Myokard nur begrenzt erfasst werden kann. Da in unserem Modell jedoch nur eine geringe Anzahl sehr großer Infarkte auftrat, konnte die Hypertrophie des überlebenden linksventrikulären Myokards anhand der Zunahme von Gewicht des linken Ventrikels sowie des Index „Gewicht des linken Ventrikels zu Körpergewicht“ deutlich nachgewiesen werden. Quantitative histologische Untersuchungen haben als Grundlage der Hypertrophie die Längen- und Durchmesserzunahme der überlebenden Myozyten ausgewiesen (134). Hypertrophie und Hyperplasie von Fibroblasten und Endothelzellen werden ebenfalls beobachtet. Als Ursachen der Hypertrophie werden mechanische Dehnung des Myokards, Episoden von Hypoxie und Ischämie/Reperfusion in der Postinfarktphase und die Aktivierung des Renin-Angiotensin- und β -adrenergen Systems angesehen. Da es bei einer isolierten Aktivierung des Renin-Angiotensin-Systems, wie in transgenen Tieren gezeigt wurde (135), nur zur Hypertrophie des linken Ventrikels kam, nehmen wir an, dass für die Hypertrophieentwicklung in beiden Ventrikeln nach Myokardinfarkt mehrere Stimuli gemeinsam verantwortlich sind. Die oben genannten Stimuli führen zur Expression wachstumsinduzierender Gene (114). Beispielsweise führt Dehnung von Myozyten zur Angiotensin II-Freisetzung, vermittelt durch den AT₂-Rezeptor, dessen Expression nach Dehnung gesteigert ist (136). Angiotensin II verfügt über wachstumsinduzierende Wirkung. Vergleichbare Hypertrophieentwicklung wurde auch nach katecholaminerger Stimulation von Myozyten gefunden (137). Es mehren sich dabei Befunde, die zeigen, dass zwischen den Hypertrophiestimuli und der Expression wachstumsassoziiierter Gene jeweils reaktive Sauerstoffspezien als Mediatoren zwischengeschaltet sind (138).

5.2.6 Myokardialer oxidativer Stress und antioxidatives System

In den meisten Untersuchungen zur myokardinfarktinduzierten Herzinsuffizienz wurde nur der linke Ventrikel untersucht oder es wurden keine Angaben zur exakten Herkunft des untersuchten Ventrikelgewebes gemacht, obwohl z.T. eine rechtsventrikuläre Hypertrophie gemessen und dort typische Zeichen für gesteigerten oxidativen Stress nachgewiesen wurden (47, 139, 140, 131). In Übereinstimmung mit der für beide Ventrikel nachgewiesenen Hypertrophie zeigt unsere Untersuchung 6 Wochen nach Myokardinfarkt in beiden Ventrikeln gesteigerte Lipidperoxidation als typisches Zeichen für oxidativen Stress. Hinweise auf die Aktivierung von oxidativem Stress in beiden Ventrikeln nach Verschluss der linken Koronararterie liegen auch aus einer anderen Untersuchungen vor (141).

Eine unterschiedliche Intensität des oxidativen Stresses im rechten bzw. linken Ventrikel lässt sich anhand der Lipidperoxid-Konzentrationen nicht ausweisen. Hinsichtlich der antioxidativen Enzyme weist jedoch der signifikante Aktivitätsverlust von SOD im linken Ventrikel auf stärkeren oxidativen Stress gegenüber den Kontrollen und bei unveränderter Aktivität gegenüber dem rechten Ventrikel hin. Mögliche Zusammenhänge zwischen der Intensität von oxidativem Stress und Hemmung antioxidativer Enzyme wurden bereits in Kapitel „akuter Myokardinfarkt“ diskutiert. Dabei wurde auch auf die bevorzugte Hemmung der CuZnSOD (106) und die vergleichsweise unempfindlichere GSH-Px (142, 21) hingewiesen. Welches die Ursachen für den stärkeren oxidativen Stress im linken Ventrikel verglichen mit dem rechten Ventrikel sind, kann gegenwärtig nicht entschieden werden. Denkbar ist, dass im linken Ventrikel anders als im rechten Ventrikel neben der Aktivierung der neuronal-humoralen Achse als Quelle für den oxidativen Stress auf Hypoxie/Ischämie/Reperfusion in stärkerem Ausmaß mit der Aktivierung von gewebsständigen Entzündungszellen reagiert wird. Werden die beobachteten Veränderungen im Stoffwechsel der Sauerstoffradikale unter Berücksichtigung der bereits diskutierten Hypothese von Singal und Kirshenbaum (124) gewertet, müssen wir davon ausgehen, dass in unserem Tiermodell durch den Myokardinfarkt oxidativer Stress im Herz initiiert wird. Dieser führt zu einem myokardialen Defizit an antioxidativer Kapazität verbunden mit Lipidperoxidation und wird von Singal und Kirshenbaum typischerweise für das dekompenzierte Stadium der Herzinsuffizienz beschrieben. Basierend auf den vielfach gezeigten toxischen Effekten der Lipidperoxidation auf Mechanismen, die essentiell für die Herzfunktion sind (143, 144, 145, 113), sollte die so gesteigerte Lipidperoxidation eine wesentliche Ursache für die

parallel beobachtete Einschränkung der Kontraktilität sein. Zusätzlich könnte die verminderte CuZnSOD die Hypertrophieentwicklung begünstigen (145).

5.3 Einfluss von ACE-Inhibition und β -Blockade auf die infarktinduzierte Herzinsuffizienz

5.3.1 Funktionelle und anatomische Charakteristika

Sowohl ACE-Hemmung mit Ramipril als auch β -Blockade mit Metoprolol und consequenterweise auch die Kombination beider führten zu einer geringeren Gewichtszunahme innerhalb des sechswöchigen Studienzeitraumes verglichen mit den scheinoperierten Kontrollen. Für β -Blocker ist eine Reduktion der Körpergewichtsentwicklung beschrieben. Im Gegensatz zu dem in unserer Studie eingesetzten selektiven β_1 -Blocker Metoprolol wurde der Einfluss auf das Körpergewicht jedoch für nicht selektive β -Blocker nachgewiesen (146, 147). Auch nach ACE-Inhibition ist eine verlangsamte Gewichtsentwicklung aus der Literatur bekannt (148, 149). Diskutiert wird, dass eine verminderte Natriumretention als primärer Effekt der ACE-Hemmung verbunden mit der sekundär aus dem Natriummangel resultierenden verminderten Kaliumretention verantwortlich für die eingeschränkte Gewichtsentwicklung unter ACE-Hemmung ist (150). Weiterhin könnte die niedrige Angiotensin II-Konzentration nach ACE-Hemmung über die direkte Wirkung als Wachstumsfaktor oder über die Interaktion mit anderen Wachstumsfaktoren zur eingeschränkten Gewichtsentwicklung nach chronischer Ramiprilgabe beitragen (151). Die Gewichtsentwicklung ist in unserer Studie jedoch unter ACE-Hemmung deutlich geringer reduziert als unter β -Blockade.

Eine in Abhängigkeit von der Behandlungsart unterschiedliche Infarktgröße wurde für die von uns in die Auswertung eingeschlossenen Tiere mit Infarktgrößen $> 20\%$ nicht beobachtet. Auffällig war jedoch nach der Kombinationstherapie eine tendenziell größere Anzahl von Tieren mit Infarktgrößen $< 20\%$. Die Infarktgröße kann vorrangig in der hyperakuten Phase nach Gefäßverschluss beeinflusst werden. Entsprechend unserem Versuchsdesign haben wir uns bemüht diese Phase von der Behandlung auszunehmen. Dennoch können wir nicht ausschließen, dass auch nach der hyperakuten Phase durch die Behandlung Einfluss auf die Infarktgröße genommen wird. Damit könnte die nach Kombinationstherapie beobachtete tendenziell geringere Anzahl an Tieren mit Infarktgrößen $> 20\%$ ein wichtiger Hinweis auf eine Überlegenheit der Metoprolol/Ramipril-Kombination im Vergleich zu den Monotherapien sein.

Obwohl die Mittelwerte für den LVEDP sowohl unter ACE-Hemmung als auch unter β -Blockade jeweils unter dem der placebobehandelten Tiere lag, zeigt sich, dass nur die Kombinationstherapie zu einer signifikanten LVEDP-Reduktion führt. Andere Autoren haben allerdings auch bei der Monotherapie mit Ramipril bzw. mit Metoprolol eine signifikante LVEDP-Reduktion gefunden (152, 130). Möglicherweise sind unterschiedliche Tierstämme, Pharmakadosen und Applikationsregimes für diese Diskrepanz im Vergleich zu unseren Untersuchungen verantwortlich. Auch die zur Charakterisierung der Kontraktilität genutzten Parameter zeigten signifikante Verbesserungen in der Gruppe mit kombinierter Behandlung Metoprolol/Ramipril. Während die Ramiprilmonotherapie wenigstens tendenziell zu einer Verbesserung der Kontraktilität führte, hatte die Metoprololmonotherapie keinen Effekt. Bereits früher wurde im Rattenmodell für den ACE-Hemmer Captopril über eine Verbesserung der Kontraktilität der myokardinfarktinduzierten Herzinsuffizienz berichtet (133).

Parallel zu den funktionellen Parametern zeigten auch die Hypertrophiemarker die Überlegenheit der Kombinationstherapie gegenüber den Monotherapien. Wie auch in anderen Studien (153, 129) gezeigt, war auch die alleinige ACE-Hemmung protektiv, wenn auch in geringerem Umfang als die Kombination. Obwohl Befunde zur Hypertrophiereduktion durch Metoprolol, allerdings am Hundemodell bei erheblich längerer Therapiedauer erhoben, vorliegen, zeigte bei uns die β -Blockade mit Metoprolol keinen signifikanten Effekt. Möglicherweise ist die Dauer der β -Blocker-Behandlung ein entscheidendes Kriterium für die Hypertrophiereduktion. In einer klinischen Studie wurde bereits nach 3 Monaten Behandlung mit β -Blockern eine Funktionsverbesserung, jedoch erst nach 18 Monaten eine Hypertrophiereduktion beobachtet (154).

5.3.2 Myokardialer oxidativer Stress und medikamentöse Therapie

ACE-Hemmer- und β -Blockergabe bei Herzinsuffizienz sollten entsprechend der von uns formulierten Hypothese zur Reduktion von oxidativem Stress im Herz führen und über diesen Weg zur herzprotektiven Wirkung beitragen. Sichtbar werden soll dies durch Zeichen des reduzierten oxidativen Stresses und nachfolgend durch gebesserte Herzgeometrie und -funktion, insbesondere nach Kombinationstherapie.

Tatsächlich kam es sowohl im rechten - dort für alle Behandlungsarten - als auch linken Ventrikel - dort bevorzugt nach der Kombinationstherapie - zur Verringerung des oxidativen Stresses, sichtbar an der Abnahme der Lipidperoxidation. Die Ursache dafür könnte in der Normalisierung bzw. Steigerung des enzymatischen antioxidativen Potentials im Myokard der

behandelten Tiere zu suchen sein. Nach der kombinierten Behandlung mit Ramipril und Metoprolol wurde dabei die deutlichste Verbesserung von Herzgeometrie und -funktion sowie korrelierend die stärkste Verminderung der myokardialen Lipidperoxidation und auch die größte Steigerung des enzymatischen antioxidativen Potentials beobachtet.

Die Monotherapie mit dem ACE-Hemmer Captopril zeigte ebenfalls eine Verminderung der Lipidperoxidation. In einer Captopril-Studie wurde das enzymatische antioxidative Potential entgegen der angenommenen Steigerung durch die Kombinationstherapie „nur“ normalisiert (47). In einer weiteren klinischen Studie zeigten Patienten mit Herzinsuffizienz unter ACE-Hemmer-Therapie parallel zur Verbesserung der Funktion ebenfalls eine Reduktion von oxidativem Stress (155).

Für Monotherapien mit β -Blockern ist ebenfalls eine Reduktion von oxidativem Stress gezeigt worden (156). Auch eine klinische Studie an Patienten mit Herzinsuffizienz weist auf die Beziehung zwischen β -Blockade und Reduktion von oxidativem Stress hin (157). Unsere Untersuchung zeigt, dass ACE-Inhibition und β -Blockade nach Myokardinfarkt protektive Wirkung auf den Sauerstoffradikal-Stoffwechsel ausüben und ebenso wie die Monotherapie auch eine deutliche Verbesserung der Herzfunktion und -geometrie bewirken.

5.3.3 Ursachen für die Reduktion von oxidativem Stress durch ACE-Inhibition und β -Blockade

Die exakten biochemischen Mechanismen, die im Allgemeinen nach β -Blockade und ACE-Inhibition und speziell nach Behandlung mit Metoprolol und Ramipril zur Verminderung von oxidativem Stress im Herz führen, sind bisher noch ungenügend bekannt. Es liegen jedoch vor allem aus in vitro- und tierexperimentellen Untersuchungen Hinweise vor, nach denen ACE-Inhibition und β -Blockade über drei verschiedene Mechanismen Einfluss auf den myokardialen Stoffwechsel der Sauerstoffradikale nehmen könnten. Danach könnten ACE-Hemmer und β -Blocker 1. als Sauerstoffradikal-Scavanger oder 2. als Inhibitoren von Sauerstoffradikalquellen wirken sowie 3. über kardiovaskuläre Effekte zu einer Verminderung von chronischer Ischämie und Wandstress, beides verbunden mit gesteigerter Sauerstoffradikalbildung, führen.

5.3.4 Reduktion von oxidativem Stress durch ACE-Hemmer und β -Blocker über die Wirkung als Sauerstoffradikal-Scavanger

Für thiolgruppenhaltige ACE-Inhibitoren wie Captopril ist bekannt, dass sie als direkte Sauerstoffradikal-Scavanger wirken (158) und so zur Verminderung von oxidativem Stress beitragen können. In Systemen, wie Xanthinoxidase/Xanthin und Xanthinoxidase/Xanthin/Eisen, die Superoxid bzw. Hydroxylradikale bilden, ist Captopril ein weicher Scavanger für Superoxid und ein potenter Hydroxylradikal-Scavanger (159). Die Aktivität von Captopril als Hydroxylradikal-Scavenger ließ sich mit Hilfe der Elektronenspin-Resonanz-Spektroskopie (ESR) untermauern (160, 161). Ramipril gehört zu den nicht thiolhaltigen ACE-Hemmern. Jedoch wurden auch nicht thiolhaltige ACE-Hemmer wie Enalapril, Denalapril und Imidapril als direkte Sauerstoffradikal-Scavanger ausgewiesen (161, 162, 50).

Auch für β -Blocker wurden Wirkungen als Sauerstoffradikal-Scavanger gezeigt. Carvedilol ist dabei der am besten untersuchte β -Blocker, für den sowohl eine direkte Reaktion mit Sauerstoffradikalen als auch ein antioxidativer Effekt basierend auf der Wirkung als Eisenchelator nachgewiesen wurde (163). Werden Sarkolemm-Präparationen in Gegenwart von β -Blockern einem System zur Generation von Hydroxylradikalen (Dihydroxyfumarate/ Fe^{3+}) ausgesetzt, beobachtet man eine konzentrations- und zeitabhängige Hemmung der Lipidperoxidation. In Korrelation mit dem Grad der Lipophilie sinkt dabei die Scavanger-Aktivität von β -Blockern in der Reihenfolge Propranolol > Pindolol > Metoprolol > Aterenol > Sotalol (51). Vergleichbare Resultate wurden in einem Xanthinoxidase/Xanthin-System zur Sauerstoffradikalgeneration gefunden (164).

5.3.5 Reduktion von oxidativem Stress durch ACE-Hemmer und β -Blocker über die Wirkung als Inhibitoren von Sauerstoffradikalquellen

Wenn sich zeigen lässt, dass Angiotensin II und β -Rezeptoragonisten Sauerstoffradikalquellen aktivieren, kann gefolgert werden, dass es bei Einsatz von ACE-Hemmern und β -Blockern zu einer Hemmung der Sauerstoffradikalbildung kommt und damit eine Reduktion von oxidativem Stress möglich wird.

Die wichtigste Quelle für Superoxid im Herz und im Gefäßsystem sind membranassoziierte NADPH-abhängige Oxidasen, die sowohl in Endothelzellen als auch in glatten Muskelzellen vorkommen (165). Angiotensin II kann diese Oxidasen aktivieren und damit die Superoxid-

produktion stimulieren (166). Auch für Leukozyten wurde eine Angiotensin II-abhängige Zunahme der Sauerstoffradikalbildung beschrieben (167, 168, 169). Die durch (entweder aus dem zirkulierenden Pool stammendes oder im lokalen Renin-Angiotensin-System gebildetes) Angiotensin II hervorgerufene Sauerstoffradikalbildung wird als ein wesentlicher Faktor für die nach Aktivierung des Renin-Angiotensin-Systems beobachteten pathophysiologischen Veränderungen im Gefäßsystem angesehen.

Zu den pathophysiologischen Konsequenzen gesteigerter Sauerstoffradikalbildung gehört auch die Aktivierung des Angiotensin Converting Enzyme (ACE). An Nierenextrakten wurde gezeigt, dass Inkubation mit oxidierenden Agentien zur Aktivitätserhöhung von ACE führt. Danach könnte ein „circulus vitiosus“ - bestehend aus erhöhtem Angiotensin II-Level, der zu gesteigerter Sauerstoffradikalbildung führt, die wiederum die ACE-Aktivität mit dem Resultat einer weiteren Angiotensin II-Zunahme erhöht - ein entscheidender Mechanismus für die Zunahme von myokardialoxidativem Stress bei Herzinsuffizienz sein.

Es kann vermutet werden, dass neben Angiotensin II auch β -Rezeptoragonisten die Sauerstoffradikalbildung durch Leukozyten begünstigen. So ist mehrfach in Gegenwart von β -Blockern, insbesondere von Metoprolol, eine geringere Sauerstoffradikalbildung nach Stimulation von Leukozyten beschrieben worden (167, 168, 169). Es wird jedoch bezweifelt, dass dabei die Signalkette über einen Adrenozeptor-assoziierten Mechanismus verläuft. Kürzlich wurde gezeigt, dass die hemmende Wirkung von Metoprolol auf die Sauerstoffradikalbildung und Chemotaxis von Neutrophilen durch β -Agonisten nicht kompensiert werden kann (170). Auf eine weitere durch β -Rezeptoragonisten hervorgerufene Möglichkeit zur Steigerung der Sauerstoffradikalbildung wurde kürzlich hingewiesen. Dabei soll eine nach Stimulierung mit β -Rezeptoragonisten resultierende Blockade des Elektronentransports im mitochondrialen Komplex I von entscheidender Bedeutung für die Sauerstoffradikalbildung sein (122).

5.3.6 Reduktion von oxidativem Stress durch ACE-Hemmer und β -Blocker über die Verminderung von chronischer Ischämie und Wandstress

Unter Ischämie werden die Entkopplung der mitochondrialen Atmungskette, die Aktivierung von Leukozyten, die Konversion von Xanthindehydrogenase zu Xanthinoxidase und der Katecholaminstoffwechsel als wichtige Sauerstoffradikalquellen angesehen (30). Wie bereits dargestellt, führt der gesteigerte Energiebedarf im Myokardinfarkt-geschädigten Herzen bei

gleichzeitig begrenzter Sauerstoffversorgung infolge der durch Fibrosierung und gestörte Perfusion erhöhten Diffusionsstrecke zur chronischen Ischämie im überlebenden Ventrikulgewebe (6). Als ein Zeichen der chronischen Ischämie im insuffizienten Herz wird die Verschiebung des CK-Isoenzymmusters zu verstärkter Expression der fetalen CK-B-Untereinheiten angesehen. Dadurch verschiebt sich das Muster zu höheren Anteilen an CK-MB und CK-BB bei prozentualem Verlust an CK-MM. Diese Verschiebung des CK-Isoenzymmusters ist Teil des myokardialen Remodelings und wird als adaptive Antwort des Myokards auf die chronische Ischämie angesehen. Sie ergibt sich aus der Affinität der Isoenzyme mit CK-B-Untereinheit, die gegenüber Creatininphosphat größer ist als die der M-Typ-Isoenzyme. Dadurch wird ein effektiverer Phosphattransfer zum ADP und damit begünstigte ATP-Bildung möglich (171, 172). Für das von uns genutzte Tiermodell ist die Verschiebung des CK-Isoenzymmusters mehrfach gezeigt (173) und damit ein Hinweis auf eine chronische Ischämie erbracht worden. Durch ACE-Inhibition und β -Blockade kann parallel zur Hypertrophiereduktion und Funktionsverbesserung des Myokards die Verschiebung des CK-Isoenzymmusters verhindert bzw. minimiert werden (174, 175). Dies weist auf die Ischämie-reduzierende Wirkung von ACE-Hemmung und β -Blockade hin und könnte damit eine Grundlage für die in unserer Studie gezeigte Reduktion von oxidativem Stress durch Ramipril und Metoprolol darstellen. Die ischämie-protektive Wirkung von ACE-Hemmern könnte u.a. aus der Hemmung der ACE-abhängigen Freisetzung von Bradykinin herrühren, welches ein potenter Stimulator der Generation von antiischämischen Mediatoren wie PGI_2 und NO ist (176, 177, 178).

Auf die Zunahme der Sauerstoffradikalproduktion nach Erhöhung des Wandstressses wurde bereits verwiesen (179). Damit sollte die für ACE-Hemmung und β -Blockade typische Reduktion des Wandstressses ebenfalls zu einer Verminderung der Sauerstoffradikal-Bildung im Myokard führen.

6 Zusammenfassung

Verschiedene Studien zur Reperfusionsphase nach akutem Myokardinfarkt konnten eine erhöhte Produktion freier Radikale dokumentieren (26, 41, 42). Diese hochreaktiven Moleküle entstehen infolge endogener Stoffwechselvorgänge und verstärken die Progression des ischämischen Gewebeschadens. Kirshenbaum und Singal (43, 44) postulierten, dass der antioxidative Status des Herzens als dynamischer Zustand der limitierende Faktor für die Entstehung der Herzinsuffizienz ist. Ebenso seien kompensatorisch hypertrophe Herzen aufgrund gesteigerter Enzymausstattung resistenter gegenüber erneuten hypoxischen Phasen oder Reperfusion (43, 44). Dem initialen Konzentrationsanstieg des antioxidativen Systems, verbunden mit einem symmetrischen Zuwachs an linksventrikulärer Wandstärke im Rahmen der adaptiven Hypertrophie, folgt mit einer Latenz der Zusammenbruch des Systems bei erneut steigenden Lipidperoxidkonzentrationen (LPO) und verminderter Kontraktionsstärke.

Die Hypothese, dass ein antioxidatives Defizit mit steigenden LPO-Werten korreliert (45, 46), konnte auch in dieser Arbeit insofern bestätigt werden, als ein signifikant inverses Verhältnis insbesondere zwischen LPO-Werten und GSH-Px- bzw. t-SOD-Aktivität in der Placebogruppe zu beobachten war. Diese Beobachtung konnte zusätzlich durch die Ergebnisse der biochemischen Analyse des Myokards 36 Stunden nach Infarzierung unterlegt werden, da im akuten Stadium des Infarkts ein Mangel an Antioxidantien mit signifikant erhöhten Lipidperoxidkonzentrationen einhergeht. Für diese Ergebniskonstellation von LPO-Konzentration und Enzymaktivität könnten mehrere Mechanismen verantwortlich sein:

- (1) Direkte radikalische Schädigung der intrazellulären Enzymausstattung
- (2) Inhibition der Proteinbiosynthese im Rahmen einer allgemeinen Stressreaktion/Schock
- (3) Reparative Stoffwechselvorgänge auf zellulärer Ebene mit nachfolgendem Rebound-Phänomen der Enzymsynthese

Die medikamentöse Therapie mit Metoprolol und Ramipril zur Aktivierung des antioxidativen Systems scheint erfolgversprechend. So konnten schon Khaper et al. (47) ähnliche Effekte mit dem ACE-Hemmer Captopril und dem α -Blocker Prazosin erzielen. Die CIBIS II-Studie (35) ergibt für die Gesamtmortalität und Wirksamkeit des β -Blockers Bisoprolol in Kombinationstherapie mit einem ACE-Hemmer und Diuretikum eine signifikant bessere Prognose hinsichtlich der Entwicklung einer Herzinsuffizienz als die konventionelle Behandlung mit Diuretika, ACE-

Hemmern und Vasodilatoren. In unserer Studie führte ebenfalls vor allem die Kombination der Medikamente Ramipril und Metoprolol - verglichen mit Placebo und Kontrolle - zu einem signifikanten Anstieg der Enzymaktivität. Unterstrichen wird die „herzprotektive“ Wirkung der Kombinationstherapie durch eine geringere Störung der kontraktilen Kraftentwicklung und geringerer LVEDP- Messergebnisse im Vergleich zur Placebothherapie.

Worauf sich die additiven Wirkungen beider Medikamente biochemisch stützen, kann bisher nur im Rahmen einer Hypothese vermutet werden. Nachweislich beeinflussen ACE-Hemmer den Arachidonsäure-Stoffwechsel, so dass es zu einem Anstieg vasodilatierender Prostaglandine sowie von NO mit steigender intrazellulärer cAMP-Biosynthese, Ca^{2+} -Efflux und Interaktion mit antioxidativen Enzymsystemen kommt (7, 48). Kaneko et al. (49) konnten eine Beeinflussung des intrazellulären Calcium-Haushaltes, insbesondere der Ca/Mg-ATPase und der Calcium-Bindungsstellen zytoplasmatischer Proteine, durch freie Radikale feststellen. Es ist nicht geklärt, ob ursächlich eine direkte rezeptorvermittelte Wirkung von ACE-Hemmern und β -Blockern vorliegt. Andere Studien favorisieren eher eine direkte Radikal-Medikamenten-Interaktion. So werden ACE-Hemmer, vor allem jene mit SH-Gruppen (Captopril), aber auch diejenigen ohne SH-Gruppen als direkte Radikalfänger angesehen (50). Scavenger-Effekte beschreibt Mak (51) in seiner In-vitro-Studie zu β -Blockade und Radikalstoffwechsel.

In der Pathophysiologie der chronischen Herzinsuffizienz spielt die autonome Imbalance eine zentrale Rolle: initiale Reflextachykardie, Kreislaufzentralisierung, folgende Baroreflexstörung, hypotonievermittelte Minderstimulation von Rezeptoren, vermindertes Herzzeitvolumen, erhöhte Sympathikusaktivierung (52, 53). Vogt et al. (54) wie auch Martin-Nero et al. (55) konnten eine Verbesserung der Baroreflexsensitivität durch ACE-Inhibition feststellen. Die Gabe von ACE-Hemmern ist in allen Stadien der symptomatischen Herzinsuffizienz indiziert, dies konnte u.a. durch die SOLVD Prevention Study (56) bei linksventrikulärer Funktionsstörung gezeigt werden. Eine deutliche Senkung der Post-Infarkt-Mortalitätsrate bewiesen die Studien GISSI 3 (57) und ISIS 4 (58), insbesondere, wenn die Therapie früh (innerhalb 24 Stunden nach Infarkt) begonnen wurde. Die Hauptwirkungen des Angiotensins sind AT1-vermittelt, wohingegen AT2-Rezeptoren Zellwachstumshemmung, Antiproliferation, Induktion von Differenzierung und Apoptose vermitteln (59). Hier könnten in Zukunft die klaren Vorteile selektiver Angiotensin II-AT1-Inhibitoren liegen (ELITE I + II (60, 61)). Lange Zeit galt die Therapie der Herzinsuffizienz mit β -blockierenden Substanzen wegen negativ chrono- und ionotroper

Nebenwirkungen als kontraindiziert. Mehrere Studien belegten einen günstigen hämodynamischen Effekt (62, 63, 64). Der MDC-Trial (65) fand zwar zunächst keine signifikante Mortalitätssenkung, jedoch zeigte sich ein Rückgang der Herztransplantationsrate wie auch der Inzidenz des plötzlichen Herztodes unter Metoprolol (MERIT-HF-Study (34)). Der US-Carvedilol-Trial (66, 67) wurde vorzeitig aufgrund deutlich geringer Mortalitätsrate in der Verumgruppe abgebrochen.

Letztendlich kann durch die systemischen Wirkungen beider Medikamente - herabgesetzte Druckbelastung, geringere Auswurfwiderstände, verminderter Energieverbrauch für Kontraktionsarbeit etc. - eine universelle Entlastung des Herzens erreicht werden. Dieser Zustand der regenerativen Organschonung, des „Remodelings“, ist einer frakturrellen Schienung vergleichbar.

Diese Studie zeigt, dass die radikalische Belastung im Rahmen eines Myokardinfarktes über einen längeren Zeitraum zu einem Defizit an antioxidativen Faktoren führt und sowohl biochemisch als auch funktionell zur Funktionsminderung des Organs beiträgt. Die Anwendung jedes Medikamentes als Monotherapie zeigte prognosegünstige Effekte, jedoch konnten die Ergebnisse der Studie einen weitaus günstigeren Einfluss einer Kombinationstherapie mit einem β -Blocker und einem ACE-Hemmer für den Verlauf des Infarktgeschehens nachweisen, sowohl auf biochemisch-zellulärer wie auf funktionell-kontraktiler Ebene.

Vollständigerweise sollen noch die wesentlichen, meist unter intensivmedizinischen Bedingungen angewendeten Medikamente (Katecholamine, PDE-Hemmer, Nitrate) genannt werden, welche durch positive Inotropie und vasodilatierenden Effekt eine Stabilisierung der hämodynamischen wie auch neurohumoralen Parameter bei akuter Herzinsuffizienz erzielen. Für die Langzeittherapie der chronischen Herzinsuffizienz empfehlen sich Kombinationstherapien von Diuretika, Nitraten, β -Blockern, ACE-Hemmern, AT1-Blockern und Digitalispräparaten.

7 Schlussfolgerung

In den diskutierten tierexperimentellen Studien wurde gezeigt, dass es während der Akutphase eines Myokardinfarktes zur Induktion von oxidativem Stress kommt. Dies zeigte sich hauptsächlich an einer Zunahme der Lipidperoxidkonzentration im Myokard. Ausgehend von Literaturdaten sehen wir diesen oxidativen Stress in der Akutphase als Initialreaktion an, die die von uns für die Herzinsuffizienz nachgewiesenen typischen Veränderungen im Stoffwechsel der Sauerstoffradikale einleiten. Dazu zählt die Verminderung des enzymatischen Schutzsystems bei gleichzeitig gesteigerter Lipidperoxidation im insuffizienten Myokard. Nach unseren Untersuchungen können der zunehmende oxidative Stress im Verlauf der Herzinsuffizienzentwicklung und parallel dazu die Verschlechterung der Hämodynamik und der kontraktilen Funktion durch frühzeitige kombinierte β -Blockade und ACE-Inhibition effektiv verringert werden. Basierend auf dem von uns beobachteten gesteigerten enzymatischen antioxidativen Schutz bei gleichzeitig verminderter Lipidperoxidation im Myokard der Tiere, die nach dem Myokardinfarkt mit der Kombination beider Medikamente behandelt wurden, postulieren wir, dass vor allem das kombinierte Behandlungsschema die adaptive Steigerung des enzymatischen antioxidativen Schutzes im Herz nach Myokardinfarkt begünstigt. Die daraus resultierende Minderung von oxidativem Stress im Herz könnte als eine Ursache für den in Studien gezeigten additiven Nutzen von β -Blockade und ACE-Inhibition bei Patienten mit Herzinsuffizienz angesehen werden.

Literaturverzeichnis

- 1 Hubert HB., Feinleib M., McNamara PM et al: Framingham-Studie: Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham heart study. *Circulation* 1983, *67*, 968-977
- 2 Braunwald, E. (ed.): *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. Philadelphia: WB Saunders Co., 1980
- 3 Packer M, Bristow MR et al: Effect of carvediol on the survival of patients with chronic heartfailure. *Circulation* 92 (*suppl.* 8), Abstr. 0673
- 4 Swynghedauw B: Development and functional adaption of contractile protein in cardiac and skeletal muscles. *Physiol. Rev.* 1986, *66*, 710-730
- 5 Katz A: Cellular mechanisms in congestive heart failure. *Am. J. Cardiology* 1988, *62*, 3A-8A
- 6 Eichhorn EJ, Bristow MR: Medical therapy can improve the biological properties of chronically failing heart. *Circulation* 1996, *94*, 2285-2296
- 7 Blaufarb IS, Sonnenblick EH: The Renin-Angiotensin System in leftventricular Re-modeling. *Am. J. Cardiology* 1996, *27*, 8C-16C
- 8 Colucci WS: Molecular and cellular mechanismus of myocardial failure. *Am. J. Cardiology* 1997, *80*, 15L-25L
- 9 Bristow MR: Mechanism of action of beta-blocking agents in heart failure. *Am. J. Cardiology* 1997, *80*, 26L-40L
- 10 Holtz J: Role of ACE-inhibition or AT1-blockade in the remodeling following myocardial Infarction. *Basic Res. Cardiology* 1998, *93*, 92-100
- 11 Ball AM, Sole MJ: Oxidative stress and the pathogenesis of heart failure. *Cardiol. Clin.* 1998, *16*, 7-18
- 12 Singal PK, Khaper N, Palace V et al: The role of oxidative stress in the genesis of heart disease. *Cardiovasc. Res.* 1998, *40*, 426-432

- 13 McMurray J, Chopra M: Influence of ACE-Inhibitors on free radicals and reperfusion injury: pharmacological curiosity or therapeutic hope. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1991, *31*, 373-379
- 14 Sobotka PA, Gupka DK, Lansky DM et al: Breath pentane is a marker of acute cardiac allograft rejection. *J. Heart & Lung Transplant.* *13*, 1994, 224-229
- 15 Diaz-Velez CR, Paolasso EA, Piegas LS et al: Metabolic modulation of acute myocardial infarction. The ECLA (Estudios Cardiológicos Latinoamerica) Collaborative Group *Circulation* 1998, 2227-2234
- 16 Diaz-Velez CR, Garcia-Castniecras S, Mendoza-Ramos E et al: Increased malondialdehyde in peripheral blood of patients with congestive heart failure. *Am. Heart Journal* 1996, *131*, 146-152
- 17 Keith M, Geranmayegau A, Sole MJ et al: Increased oxidative stress in patients with congestive heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1998, *31*, 1352-1356
- 18 Yucel D, Aydogdu S, Cehreli S et al: Increased oxidative stress in dilated cardiomyopathy heart failure. *Clin. Chem.* 1998, *44*, 148-154
- 19 Mallat Z, Philip I, Lebreton M: Elevated levels of 8-iso-prostaglandin-F2-alpha in pericardial fluid of patients with heart failure. *Circulation* 1998, *97*, 1536-1539
- 20 Schimke I, Müller J, Pfriem F, et al: Decreased oxidative stress in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy one year after immunoglobulin adsorption. *Am. Coll. Cardiol.* 2001, *38*, 178-183
- 21 Xi L, Hess ML, Kukreja RC: Ischemic preconditioning in isolated perfused mouse heart: reduction in infarct size without improvement of postischemic ventricular function. *Mol. Cell. Biochem.* 1998, *186*, 69-77
- 22 Schimke I, Schikora M, Meyer R et al: Oxidative stress in the human heart is associated with changes in the antioxidative defense as shown after heart transplantation. *Mol. Cell. Cardiol.* 2000, *204*, 89-96
- 23 Lefer DJ, Granger DN: Oxidative stress and cardiac disease. *Am. J. Med.* 2000, *109*, 315-323

- 24 modifiziert nach Pryor WA: Oxy-radicals and related species: Their formation, lifetime and reactions. *Am. Rev. Physiol.* 1986, *48*, 657-667
- 25 Tyler DD: Polargraphic assay and intracellular distribution of superoxide dismutase in rat liver. *Biochem. J.* 1975, *147*, 493-504
- 26 Flaherty JT, Weisfeldt ML: Reperfusion injury-free radicals. *Bio. Med.* 1988, *5*, 409-419
- 27 Eddy LJ, Stewart JR, Jones HP et al: Free radical-producing enzyme, xanthine oxidase, is undetectable in human hearts. *Am. J. Physiol.* 1987, *253*, H 709-711
- 28 Jarasch ED, Bruder G, Heid HW: Significance of xanthine oxidase in capillary endothel cells. *Acta Physiol. Scand.* 1986, *548*, 39-46
- 29 Scarpa M., Rigo A, Maiorino M et al: Formation of alpha-tocopherol radical and recycling of alpha-tocopherol by ascorbat during peroxidation of phosphatidylcholine liposomes. An electron paramagnetic resonance study. *Biochem. Biophys. Acta* 1984, *801*, 215-219
- 30 Schimke I, Haberland A: Sauerstoffradikale u. Herz-Kreislaufferkrankungen: Pathogenetische Mechanismen, therapeutische Möglichkeiten. *Z. Kardiologie* 1993, *82*, 601-609
- 31 Mills GC: *J. Biol. Chemie* 1957, *229*, 189
- 32 Flohe L, Schlegel W: Glutathione peroxidase IV intracellular distribution of the glutathione peroxidase system in the rat liver. *Z. physiol. Chemie* 1971, *352*, 1401-1410
- 33 Sharmberger RJ: *Proc. Symp. Selenium Environ Ind. Health Found. Pittsburgh, Pa.* 1976, 253
- 34 MERITH-HF study group: Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart-failure: Metoprolol CR/XL Randomised intervention Trial in congestive heart failure. *Lancet* 1999, *353*, 2001-2007
- 35 CIBIS II Investigators and Commitees: The cardiac insufficiency bisoprolol study II: a randomised trial. *Lancet* 1999, *353*, 9-12
- 36 Ohkawa H, Oshishi N, Yagi K: *Analytische Biochemie* 1979, *95*, 351-358

- 37 Lowry OH, Roseburgh NJ, Farr AL et al: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chemie* 1951, *193*, 265-275
- 38 Beauchamp C, Fridovich J: Superoxid dismutase: improved assay and an assay applicable to acrylamid gels. *J. Anal. Biochemie* 1971, *44*, 27-287
- 39 Mizuno Y: Changes in superoxide dismutase, catalase, glutathion peroxidase and glutathion reductase activities and thiobarbiture acid reactive products levels in early stages of development in dystrophic chickens. *Exp. Neur.* 1984, *84*, 58-73
- 40 Paglia DE, Valentine WN: Studies on the Quantitative and Qualitative characterisation of erythrocytes glutathion peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* 1967, *29*, 143-148
- 41 Grech ED et al: Differential free radical activity after successful and unsuccessful thrombolytic reperfusion in acute myocardial infarction. *Europ. Heart J*, 1991, *12*, Abstr. Suppl. 1245
- 42 Hammond B, Hess ML: The oxygen free redical system: potential mediator of myocardial injury. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1985, *6*, 215- 220
- 43 Kirshenbaum LA, Singal PK: Antioxidant changes in heart hypertrophy: Significance during Hypoxia-reoxygenation injury. *Can. J. Physiol. Pharmacology* 1992, *10*, 1330-1335
- 44 Kirshenbaum LA, Singal P: Increase in endogenous antioxidant enzymes protects heart against reperfusion injury. *Am. Physiolog.* 1993, *265*, H 484-493
- 45 Dhalla AK, Singal PK: Antioxidant changes in hypertrophied and failing guinea pig hearts. *Am. J. Physiolog.* 1994, *266*, 1280
- 46 Gupta M, Gameiro A, Singal PK: Reduced vulnerability of the hyperthrophied rat heart to oxygen radical injury. *Can. J. Physiolog.-Pharmacology* 1987, *6*, 1157-1167
- 47 Kharper et al: Effects of afterload-reducing drugs on pathogenesis of antioxidant changes and congestive heart failure in rats. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1997, *29*, 856-861
- 48 Bönner G: Kinine und ACE-Hemmer, Arcis Verlag München 1994, entnommen aus der wissenschaftlichen Basisbroschüre „Vesdil“ der Firma ASTRA GmbH, Stand 08/96, Seite 9

- 49 Kaneko M, Singal PK, Dhalla NS: Alterations in heart sacrolemma Ca^{2+} -ATPase and Ca^{2+} binding activities due to oxygen free radicals. *Basic Resusc Cardiol.* 1990, 85, 45-54
- 50 Mira ML, Silva MM, Queiroz MJ et al: Angiotensin converting enzymes inhibitors as oxygen free radical scavengers. *Free Radical Resusc Commun* 1993, 19, 173-181
- 51 Mak IT, Wiglicki WB: Protection by beta blocking agents against free radical mediated lipid peroxydation. *Circ. Res.* 1988, 63, 262-266
- 52 Packer M: The neurohumoral hypothesis: a theory to explain the mechanism of disease progression in heart failure. *J. Am. Cardiol.* 1992, 20, 248-254
- 53 Packer M, Cohn CJ: Consensus recommendations for heart failure. *Am. J. Cardiol.* 1999, 83, 1A-38 A
- 54 Vogt A, Unterberg C, Kreuzer H: Acute effects of the new angiotensin converting enzyme inhibitor ramipril on hemodynamics and carotid sinus baroreflex activity in congestive heart failure. *Am. J. Cardiol.*, 59, 149 D-154 D
- 55 Martin-Nero JA, Pintya AO, Gallo L et al: Abnormal baroreflex control of heart rate in decompensated congestive heart failure a. reversal after compensation. *Am. J. Cardiol.* 67, 604-610
- 56 The SOLVD Investigastors: Effects of enalapril on mortality and the development of heart failure in asymptomatic patients with reduced left ventricular ejection fractions. *New Engl. J. Med.* 327, 685-691
- 57 GISSI 3: Gruppo Italiano per lo Studio della soprawivenza nell Infarcto Micardico: Effects of lisinopril and transdermal glyceryl trinitrate singly and together on 6 week mortality and ventricular function after acute myocardial infarction. *Lancet* 1994, 343, 1115-1122
- 58 ISIS 4 (Fourth interational Study on Infarct Survival) Collaborative Group 1995: A randomised factorial trial assessing early oral captopril, oral mononitrat and intravenosus magnesium aulphate in 58050 patients with suspected acute myocardial infarction. *Lancet* 1995, 345, 669-685
- 59 Burnier M, Brunner HR: Angiotensin II rezeptor antagonist. *Lancet* 2000, 355, 293-302

- 60 ELITE I+II (Evaluation of Losertan in the Eldery Study), Pitt B et al: Randomised trial of losertan versus captopril in patients over 65 with heart failure. *Lancet* 1997, *349*, 747-752
- 61 Pitt B, Pool-Wilson PA, Segal R et al: Effect of losertan compared with captopril on mortality in patients with symptomatic heart failure: randomised trial – The Losertan Heart Failure Survival Study Elite II. *Lancet* 2000, *355*, 1582-1587
- 62 Chadda K, Goldstein S, Byington R et al: Effect of propranolol after myocardial infarction in patients with heart failure. *Circulation* 1986, *73*, 503-510
- 63 Sigmund M, Hanroth P: Betarezeptorenblocker bei chron. Herzinsuffizienz. *Z. Kardiologie* 1995, *84*, 820-826
- 64 Hennersdorf M, Perings C, Vester EG: Hemodynamic effects of celiprolol in patients with ischemic and non ischemic cardiomyopathie. *Int. J. Cardiol.* 1999, *68*, 289-295
- 65 MDC-Trail: Waagstein F, Bristow MR, Swedberg K et al: Metoprolol in dilated cardiomyopathie trial study group 1993: Beneficial effects of metoprolol in idiopathic dilated cardiomyopathie. *Lancet* 1993, *342*, 1441-1446
- 66 Packer M, Bristow MR, Collucci WS et al: US-Carvedilol Heart Failure Study Group 1996: The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. *N. Engl. J. Med.* 1996, *334*, 1349-1355
- 67 Australia/New Zealand Heart failure Research: Randomized, placebo controlled trial of carvedilol in patients with congestive heart failure due to the ischemic heart disease. *Lancet* 1997, *349*, 375-380
- 68 Gutteridge JMC: Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem.* 1995, *41*, 1819-1828
- 69 Ji LL: Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1999, *222*, 283-292
- 70 Armstrong D, Browne R: The analysis of free radicals, lipid peroxides, antioxidant enzymes and compounds to oxidative stress as applied to the clinical chemistry laboratory. *Adv. Exp. Bio. Med.* 1994, *366*, 43-58

- 71 Shimitzu T, Kondo K, Hayaishi O: Role of prostaglandin endoperoxides in the serum TBA-reaction. Arch Biochem. Biophys. 1981, 206, 271-276
- 72 Schimke I, Papies B: Einige methodische Aspekte der Bestimmung thiobarbitursäure-reaktiver Substanzen im Plasma. Z. med. Lab. Diagnostik 1986, 27, 71-75
- 73 Janero DR: Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic incidences of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. Free Radic. Biol. Med. 1990, 9, 515-540
- 74 Liedtke AJ, Mahar CQ, Ytrehus K et al: Estimates of free-radical production in rat and swine hearts: method and application of measuring malondialdehyde levels in fresh and frozen myocardium. Basic Res. Cardiol. 1984, 79, 513-518
- 75 Buege J, Aust SD: Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol. 1978, 52, 302-310
- 76 Schimke I: Tierexperimentelle und klinisch-chemische Untersuchungen zum Stoffwechsel der O₂-Radikale bei Herz-Kreislauf-Krankheiten. Habilitationsschrift, Berlin 1987
- 77 McCord JM, Crapo JD, Fridovich I: Superoxide dismutase assay: a review of Methodology. In: Michelson AM, McCord JM, Fridovich I (eds): Superoxide and superoxide dismutases. Academic press, London, NY, San Francisco 1977, 11-17
- 78 Lengfelder E, Elstner EF: Cyanide insensitive iron superoxide dismutase in euglelia gracilis. Comparison of Reliability of different test systems for superoxide dismutase. Z. Naturforsch. 1979, 34c, 374-380
- 79 Schikora M: Untersuchungen zum myokardialen Sauerstoffradikal-Stoffwechsel von Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz und Patienten nach Herztransplantation. Dissertation, Berlin
- 80 Oberley LW, Spitz DR: Assay of superoxide dismutase activity in tumor tissue. Methods Enzymol. 1984, 105, 457-464
- 81 Carmagnol F, Sinet PM, Jerome H: Selenium-dependent and non-selenium-dependent glutathion peroxidases in human tissue extracts. Biochem. Biophys. Acta 1983, 759, 49-57

- 82 Garcia-Bunuel L: Lipid peroxidation in alcohol myopathy and cardiomyopathie. Med. Hypotheses 1984, 13, 217-231
- 83 Nordman R, Ribiere C, Rouch H: Ethanol-induced lipid peroxidation and oxidative stress in extrahepatic tissues. Alcohol 1990, 25, 231-237
- 84 Jiang JP, Downing SE: Catecholamine cardiomyopathy: review and analysis of pathogenetic mechanism. Yale Journal Biol. Med. 1990, 63, 591
- 85 Singal P, Kapur N, Dhillon KS: Can. Journal Physiology/Pharmacology 1982, 60, 1390-1397
- 86 Asayama K, Kato K: Oxidative molecular injury and its relevance to hypothyroidism. Free Radic. Biolog. Med. 1990, 8, 293-303
- 87 Jain SK, Levine SN: Elevated lipid peroxidation and Vit E-chinone levels in heart ventricles of streptozotocin treated diabetic rats. Free Radic Biol. Med. 1995, 337-341
- 88 Mimnaugh EG, Trush MA, Gram TE: A possible role for membrane lipid peroxidation in anthracycline nephrotoxicity. Biochem. Pharmacol. 1986, 35, 4327-4335
- 89 Iliskovic N, Li T, Khaper N et al: Modulation of adriamycin induced changes in serum free fatty acids, albumin and cardiac oxidative stress. Mol. Cell. Biochem. 1998, 188, 161-166
- 90 Stroh WE, Schaffer SW: Furazolidone-enhanced production of free radicals by avian cardiac and hepatic microsomal membranes. Toxicol Appl. Pharmacol. 1989, 98, 81-96
- 91 Fukuchi T, Kobayashi A, Kaneko M: Possible involvement of free radicals and antioxidants in the early stages of the development of cardiomyopathy in BIO 14.6 Syrian hamster. Jpn. Heart Journal 1991, 32, 665-666
- 92 Nordmann R: Alcohol and antioxidant systems. Alcohol 94, 29, 513-522
- 93 Edes I, Pries G, Forster T et al: Alcohol-induced congestive cardiomyopathy in adult turkeys: effect on myocardial antioxidant defence system. Basic Res. Cardiol. 1988, 82, 551-556

- 94 Am. Heart Association: International Liaison Committee on Resuscitation, ILCOR: Guidelines 2000 for cardiovascular care – an international consensus on science. *Circulation* 2000, *102*, 1-384
- 95 Flather MD, Yusuf S, Kober L et al: Long term ACE-inhibitor therapy in patient with heart failure or left-ventricular dysfunction: A systematic overview of data from individual patients. *Lancet* 2000, *355*, 1575-1581
- 96 Zhao MH, Fu W, Yuan W et al: A study of time window for oxidative stress associated with myocardial ischemia and reperfusion. *Clin. Med. J.* 1996, *109*, 926-929
- 97 Zhong P, Li ZL, Wu HC et al: Clinical study of changes of urotensin II in patients with congestive heart failure. *Di Xi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 2003, *23*, 121-123
- 98 Lehmann I, Papies B, Parsi RA et al: Enzyme pattern and lipid peroxides in endomyocardial biopsies from patients with cardiomyopathy and myocarditis. *Clin. Chem. Acta* 1988, *173*, 193-200
- 99 Clot P, Tabone M, Arico S et al: Monitoring oxidative damage in patients with liver cirrhosis and different daily alcohol intake. *Gut* 1994, *35*, 1637-1643
- 100 Schimke I, Schimke E: Plasma concentration of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in type I diabetics. *Diabetes Res.* 1992, *21*, 65-72
- 101 Schimke I, Kahl PE, Romaniuk P et al: Concentration of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in serum following myocardial infarct. *Kl. Wochenschrift* 1986, *64*, 1237-39
- 102 Singh RB, Niaz MA, Bishoni I et al: Diet, antioxidant vitamins, oxidative stress and risk of coronary artery disease: the Peerzada Prospective Study. *Acta Cardiol.* 1994, *49*, 453-467
- 103 Meerson FZ, Kagau VE et al: The role of lipid peroxidation in pathogenesis of ischemic damage and the antioxidant protection of the heart. *Basic Res. Cardiol.* 1982, *82*, 465-485
- 104 Schimke I, Haberland A, With M et al: Influence of long-term supplementation with alpha-linolenic acid on myocardial lipid peroxidation and antioxidative capacity in

- spontaneously hypertensive rats. Prostaglandins, Leucotriens and Essent Fatty Acids 1997, 57, 545-550
- 105 Theres H, Wagner KD, Schulz S et al: Oxygen radical system in chronic infarcted rat heart the effect of combined beta blockade and ACE inhibition. J. Cardiovasc. Pharmacology 2000, 35, 708-715
 - 106 Haberland A, Mader K, Strasser R: Comparisson of malondialdehyde and hydrogen peroxide modified CnZnSOD by EPR spectroscopy. Agents Actions 1993, 40, 266-270
 - 107 Wagner KD, Gmehling G, Gunther J et al: Contractile function of rat myocardium is less susceptible to hypoxia/eoxygenation after acute infarction. Mol. Cell. Biochem. 2001, 228, 49-55
 - 108 Torok B, Roth E, Bar V et al: Effects of antioxidant therapy in experimentally induced heart infarcts. Basic Res. Cardiol. 1986, 81, 167-179
 - 109 Burton KP, Mc Cord JM, Ghai G: Myocardial alteration due to free radical generation. Am. J. Physiol. 1984, 246, H 776-783
 - 110 Blaustein AS, Schine L, Brooks WW: Influence of exogenously generated oxidant species on myocardial function. Am. Journal Physiol. 1986, 250, 595-599
 - 111 Jackson CV, Mickelson JK, Pope TK: O₂ free radical-mediated myocardial and vascular dysfunction. Am. J. Physiol. 1986, 251, 1225-1231
 - 112 Goldhaber JJ, Weiss JN: Oxygen free radicals and cardiac reperfusion abnormalities. Hypertension 1992, 11, S 11
 - 113 Schimke I, Haberland A, Will et al: In vitro effects of reactive oxygen species and the β -receptor-adenylyl-cyclase system. Mol. Cell. Biochemie 1992, 110, 41-46
 - 114 Nakanishi K, Hamada K, Nakamura K et al: Renal hemodynamic interaction of nitric oxide and angiotensin II. (Circulation 1998), Nippon Jinzo Gakki Shi 1998, 40, 567-572
 - 115 Imlay JA, Linn S: DNA-damage and oxygen radical toxicit. Science 1988, 240, 1302-1309
 - 116 Pauletto P, Piccolo D, Scannapieco G et al: Left ventricular hypertrophy in hypertension: Changes in isomyosins and creatine-kinase isoenzymes Am. J. Med. 1988, 84, 122-124

- 117 Singal PK, Khaper N, Kumar D et al: The role of oxidative stress in the genesis of heart disease. *Cardiovasc. Res.* 1998, *40*, 426-432
- 118 Li PF, Dietz R, von Harsdorf R: Superoxide induces apoptosis in cardiomyocytes by proliferation and expression of transforming growth factor – beta 1 in cardiac fibro-blasts. *FEBS Lett.* 1999, *448*, 206-210
- 119 White HD, Norris RM, Brown MA et al: Left ventricular and systolic volume as the major determinant of survival after recovery from myocardial infarction. *Circulation* 1987, *76*, 44-51
- 120 Demopoulos HB, Flamm ES, Pietronigro DD et al: The free radical pathology and the microcirculation in the major central nervous system disorders. *Acta Physiol. Scand.* 1980, *492*, 91-119
- 121 Nohl H: Generation of superoxideradicals as byproduct of cellular respiration. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* 1994, *94*, 199-204
- 122 Sawyer DB, Collucci WS: Mitochondrial oxidative stress in heart failure “oxygen wastage” revisited. *Circulation Res.* 2000, *86*, 119-120
- 123 Lucchesi BR, Mullane KM: Leucocytes and ischemia-induced myocardial Injury. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1986, *26*, 201-224
- 124 Singal PK, Kirshenbaum: A reactive deficit in antioxidant reserve may contribute in cardiac failure. *Can. J. Cardiol.* 1990, *6*, 47-49
- 125 Gupta M et Singal PK: Higher antioxidative capacity during a chronic stable heart hypertrophy. *Circul. Res.* 1989, *64*, 398-406
- 126 Singal PK, Deally CM, Weiner IE: Subcellular effects of adriamycin in the heart: a concise review. *J. Mol. Cell-Cardiol.* 1987, *19*, 817-828
- 127 Pfeffer MA, Pfeffer JM, Steinberg C et al: Survival after an experimental myocardial infarction: beneficial effects of long-term therapy with captopril. *Circulation* 1985, *72*, 406-412

- 128 Yamaguchi F, Sanbe A, Takeo S: Effects of long-term treatment with trandolapril on sarcoplasmic reticulum function of cardiac muscle in rats with chronic heart failure following myocardial infarction. *Brit. J. Pharmacol.* 1998, *123*, 326-334
- 129 Hügel S, Horn M, de Groot M et al: Effects of ACE inhibition and beta-receptor blockade on energy metabolism in rats postmyocardial infarction. *Am. J. Physiol.* 1999, *277*, H2167-2175
- 130 Wei S, Chow LT, Sanderson JE et al: Effects of carvedilol in comparison with metoprolol on myocardial collagen post infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000, *36*, 276-281
- 131 Wagner KD, Geil D, Schimke I et al: Decreased susceptibility of contractile function to hypoxia/reoxygenation in chronic infarcted rat hearts. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1998, *30*, 2341-2353
- 132 Wagner KD, Theres H, Born AK et al: Contractile function of papillary muscle from rat with different infarct size after beta adrenergic blockade and ACE-inhibition. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1997, *29*, 2941-2951
- 133 Litwin SE, Morgan JP: Captopril enhances intracellular calcium handling and beta-adrenergic responsiveness of myocardium from rats with postinfarction failure. *Circulation Res.* 1992, *71*, 797-807
- 134 Anversa P, Beghi C, Kikkawa Y et al: Myocardial infarction in rats: Infarct size, myocyte hypertrophy and capillary growth. *Circ. Res.* 1986, *58*, 26-37
- 135 Wagner KD, Eßmann V, Mydlak K et al: Decreased susceptibility of cardiac function to hypoxia-reoxygenation in renin-angiotensin-transgenic rats. *J. Am. Physiol.* 2002
- 136 Kijima K, Matsubara H, Murasawa S et al: Mechanical stretch induces enhanced expression of angiotensin II receptor subtypes in neonatal rat cardiac myocytes. *Circulat. Res.* 1996, *79*, 887-897
- 137 Deng XF, Rokosh DG, Simpson PC: Autonomously and growth factor induced hypertrophy in cultured neonatal mouse cardiac myocytes, comparison with rats. *Circ. Res.* 2000, *87*, 781-788

- 138 Pimentel DR, Amin JK, Xiao L et al: Reactive oxygen species mediate amplitude dependent hypertrophic and apoptotic responses to mechanical stretch in cardiac myocytes. *Circ Res.* 2001/2000, *89*, 453-460
- 139 Khaper N, Singal PK: Modulation of oxidative stress by a selective inhibition of angiotensin II type I receptors in MI rats. *Am. Col. Cardiol.* 2001, *37*, 1461-1466
- 140 Sia YT, Parker TG, Lin P et al: Improved post myocardial infarction survival with probucol in rats: effects on left ventricular function, morphology, cardiac oxidative stress and cytokine expression. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002, *39*, 148-156
- 141 Hill MF , Singal PK: Right and left myocardial antioxidant responses during heart failure subsequent to myocardial infarction. *Circulation* 1997, *96*, 2414-2420
- 142 Hill MF, Singal PK: Antioxidant and oxidative stress changes during heart failure sussequent to myocardial infarction in rats. *Am. J. Patholog.* 1996, *148*, 291-300
- 143 Coetzee IH, Lochner A: Free radical effects on myocardial membrane micro-viscosity. *Cardioscience* 1993, *4*, 205-215
- 144 Kaneko M, Matsumoto Y, Hayashi H et al: Oxygen free radicals and calcium homeostasis in the heart. *Mol. Cell. Biochem.* 1994, *139*, 91-100
- 145 Siwite DA, Tzotzis JD, Pimental DR et al: Inhibition of copper-zinc superoxide dismutase induces cell growth, hypertrophic phenotype and apoptosis in neonatal rat cardiac myocytes in vitro. *Circ. Res.* 1999, *85*, 147-153
- 146 Donta I, Karayannacos PE et al: Effect of beta-adrenergic blockade on physiologic growth in the Wistar rat. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 1982, *37*, 147-150
- 147 Rothwell CE, Mc Guire EJ, Martin RA et al: Chronic toxicity and carcinogenicity studies with the beta-adenoeptor antagonist levobulol. *Fund. Appl. Toxicol.* 1992, *18*, 353-359
- 148 Campbell DJ, Duncan AM, Kladis A et al: Converting enzyme inhibition and its withdrawal in spontaneously hypertensive rats. *J. Cardiovasc Pharmacol.* 1995, *26*, 426-436

- 149 Duncan AM, Burrell LM, Kladis A et al: Effects of angiotensin converting enzyme inhibition on angiotensin and bradykinin peptides in rats with myocardial infarction. *Cardiovasc. Pharmacol.* 1996, 28, 746-54
- 150 Toritsuka N, Daimon H, Sawada S et al: Mutagenicity study of gadobenate dimeglumine formation (E 7155) (3) – Micronucleus test in rat bone marrow cells. *J. Toxicol. Science* 1999, 24, 103-106
- 151 Schelling P: Angiotensin and cell growth: a link to cardiovascular hypertrophy. *Journal Hypertension* 1991, 9, 3-15
- 152 Liu YH, Yang XP, Mehta D et al: Role of kinins in chronic heart failure and in the therapeutic effect of ACE inhibitors in kininogen deficient rats. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2000, 278, 507-514
- 153 Pinto YM, van Wijngaarden J, van Gilst WH et al: The effects of short and long-term treatment with an ACE-inhibitor in rats with myocardial infarction. *Basic Res. Cardiol.* 1991, 86, 165-172
- 154 Gilbert M, Lowes B, Bristow MR, unpubliziert in Eichhorn EJ, Bristow MR: *Circulation* 1996
- 155 Vizir VA, Berzin AE: Cardiac failure treatment with berlipril: effects on hemodynamics, neurohumoral status and activity of free radical lipid peroxidation. *Ter Arkh* 1999, 71, 13-17
- 156 Mansuy P, Mougenot N, Ramirez-Gil JF et al: Effects of prolonged propranolol treatment on left ventricular remodeling and oxidative stress after myocardial infarction in rats. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2000, 35, 806-813
- 157 Kukin ML, Kalman J, Charney RH et al: Prospective, randomized comparison of effect of long term treatment with metoprolol or carvedilol on symptoms, exercise, ejection fraction and oxidative stress in heart failure. *Circulation* 1999, 99, 2645-2651
- 158 Chopra M, Beswick H, Clapperton M et al: Antioxidant effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors: free radical and oxidant scavenging are sulfhydryl depended, but lipid peroxidation is inhibited by both sulfhydryl containing and non-sulfhydryl containing ACE-inhibitors. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1992, 19, 330-340

- 159 Engelmann GL, Dionne CA, Jaye MC: Acidic fibroblast growth factor, heart developement and capillary angiogenesis et al. *Ann. NY Acad. Science* 1991, *638*, 463-466
- 160 Misik V, Mak IT, Stafford RE et al: Reactions of captopril and epicaptopril with transition metal ions and hydroxyl radicals: an EPR spectroscopy. *Free Radic. Biol. Med.* 1993, *15*, 611-619
- 161 Suzuki H, Matsumori A, Matoba Y et al: Enhanced expression of superoxide dismutase messenger RNA in viral myocarditis. *Clin. Invest.* 1993, *91*, 2727-2733
- 162 Obata T, Yamanaka Y: Effect of OH scavenging action by non SH-containing angiotensin converting enzyme inhibitor imidaprilat using microdialysis. *J. Physiol. Paris* 1998, *92*, 1-4
- 163 Yue TL, Cheng HY, Cysko PG et al: Carvedilol, a new vasodilator and β -adrenoreceptor antagonist, is an antioxidant and free radical scavenger. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 1992, *263*, 92-98
- 164 Napoli C, Ambrosio G et al: Protezione da parte die bloccanti della perossidazione delle lipoprotein umane a bassa densita indotta dai radicali liberi dell ossigeno. *G. Ital. Cardiol.* 1994, *24*, 361-366
- 165 Munzel T, Hink U, Heizer T et al: Role for NADPH/NADH oxidase in the modulation of vascular tone. *Ann. NY. Acad. Science* 1999, *874*, 386-400
- 166 Griendling KK, Minieri CA et al: Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.* 1994, *74*, 1141-1148
- 167 Mohazzab KM, Kaminski PM et al: NADH oxidoreductase is a major source of superoxide anion in bovine coronary artery endothelium. *Am. J. Physiol.* 1994, *226*, H 2568-2572
- 168 Prabha PS, Das UN, Koratkar R et al: Free radical generation, lipid peroxidation and essential fatty acids in uncontrolled essential hypertension. *Prostaglandins, Leucotriens, Essent Fatty acids* 1990, *41*, 2-7

- 169 Kumar KV, Das UN et al: Are free radicals involved in the pathobiology of human essential hypertension. *Free Radic. Res. Commun.* 1993, *19*, 59-66
- 170 Dunzendorfer S, Wiedermann CJ: Modulation of neutrophil migration and superoxide anion release by metoprolol. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2000, *32*, 915-924
- 171 Younes A, Schneider JM et al: Redistribution of creatine kinase isoenzymes in chronically overloaded myocardium. *Cardiovasc. Res.* 1984, *58*, 26-37
- 172 Neubauer S, Horn M, Naumann A et al: Impairment of energy metabolism in intact residual myocardium of rat hearts with chronic myocardial infarction. *J. Clin. Invest.* 1995, 1092-1100
- 173 Theres H, Wagner KD, Romberg D et al: Combined treatment with ramipril and metoprolol prevents changes in the creatine kinase isoenzyme system and improves hemodynamic function in rat hearts after myocardial infarction. *Cardiovasc. Drugs and Therapy* 2000, *14*, 597-606
- 174 Ishikawa K, Hashimoto H et al: Enalapril improves heart failure induced by monocrotaline without reducing pulmonary hypertension in rats: role of preserved myocardial creatine kinase and lactat dehydrogenase isoenzymes. *J. Cardiol.* 1995, *47*, 225-233
- 175 Neubauer S et al: Long term beta-blocker treatment prevents chronic creatine kinase and lactat dehydrogenase system changes in rat hearts after myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1996, *27*, 487-493
- 176 Busse R, Flemming I et al: Endothelium-derived bradykinin: implication for angiotensin-converting enzyme-inhibitor therapy. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1993, *22*, 31-36
- 177 Linz W, Wiemer G: Contribution of bradykinine to the cardiovascular effects of ramipril. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1995, *25*, 440- 447
- 178 Massoudy P, Becker BF, Gerlach E: Nitric oxide accounts for postischemic cardioprotection resulting from angiotensin-converting-enzym inhibition: indirect evidence for a radical scavenger effect in isolated guinea pig heart. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1995, *25*, 440-447

- 179 Cheng W, Li B et al: Stretch-induced programmed myocyte cell death. *J. Clin. Invest.* 1995, 96, 2247-2259

Lebenslauf

Name	Schulz
Vorname	Sabine-Susan
geboren	06.10.1974 in Zwickau/Sachsen
Familienstand	ledig
Nationalität	deutsch
1981-1986	Goethe-Oberschule Zwickau-Planitz (Klassen 1-5)
August 1986	Ausreise in die BRD; wg. fehlender Englischkenntnisse Rückstufung in Klasse 5
Sept. bis Nov. 1986	Adalbert-Stifter-Gymnasium, Castrop-Rauxel
November 1986	Städtisches Gymnasium Beverungen
Schuljahr 1991/92	auf Empfehlung der Lehrerkonferenz Wechsel von Jahrgangsstufe 10.1 in 11.2
1994	Erlangung der Hochschulreife
Krankenpflegedienst	April 1994 Unfallchirurg. Pflegestation, St.-Ansgar-KH, Höxter März 1995 Neonatologische Intensivstation, St.-Ansgar-KH, Höxter August 1995 Pädiatrische Pflegestation, St.-Ansgar-KH, Höxter
September 1994	Immatrikulation an der Medizinischen Fakultät (Charité) der Humboldt Universität zu Berlin
1995	Beginn der experimentellen Arbeiten zur Dissertation bei Prof. Dr. I. Schimke an der 1. Med. Klinik der Charité (Chefarzt Prof. Dr. med. G. Baumann)
Famulatur	März 1997 Unfallchirurgie, St.-Ansgar-KH, Höxter März 1998 Innere Medizin, Kardiologie, Charité, Berlin Gesichts- u. Kiefer Chirurgie, Gemeinschaftspraxis Dres. Schade und Becker, Göttingen August 1998 Innere Medizin, St.-Ansgar-KH, Höxter
Praktisches Jahr 10/ 99- 09/ 00	1. Trimester: Innere Medizin, Kardiologische Abteilung, Chefarzt Prof. Dr. H-J. Schulz, Oskar-Ziethen-KH, Berlin, Lehrkh. d. Charité 2. Trimester: Anästhesie, Chefarzt Prof. Dr. med. G. Zietz, Oskar-Ziethen-KH, Berlin 3. Trimester: Unfallchirurgie, Chefärzte Prof. Dr. med. Gellert, Dr. med. Ch. Müller, Oskar-Ziethen-KH, Berlin
Examina	1996 Physikum 1997 1. Staatsexamen 1999 2. Staatsexamen 2000 3. Staatsexamen, Abschluss des Medizinstudiums
Januar 2001	Beginn der Tätigkeit als AiP in der Inneren Abteilung des Kreiskrankenhauses Hofgeismar
Juli 2002	Erreichen des Status „Assistenzärztin“ in der Inneren Abteilung des Kreiskrankenhauses Hofgeismar sowie seither Notärztin im Rettungsdienst Hofgeismar

Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass diese Arbeit von mir und ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst wurde, auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten darstellt und die benutzten Hilfsmittel sowie die Literatur vollständig angegeben sind.

Beverungen, Juli 2004